

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
6. April 2006 (06.04.2006)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2006/034872 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

C07D 239/48 (2006.01) A61K 31/505 (2006.01)
C07D 239/46 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

Berlin (DE). LIENAU, Philip; Invalidenstr. 101, 10115
Berlin (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/010578

(22) Internationales Anmeldedatum:
27. September 2005 (27.09.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

60/613,964 29. September 2004 (29.09.2004) US
10 2004 049 622.6 6. Oktober 2004 (06.10.2004) DE

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY,
MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder: SCHERING AKTIENGESellschaft
[DE/DE]; Müllerstrasse 178, 13353 Berlin (DE).

(72) Erfinder: CLEVE, Arwed; Konstanzer Strasse 8, 10707
Berlin (DE). LÜCKING, Ulrich; Bödickerstrasse 6,
10245 Berlin (DE). WEST, Christopher; 43 Montecarlo
Way, American Canyon, CA 94503 (US). BRIEM, Hans;
Baumhauser Weg 41a, 28279 Bremen (DE). SIEMEIS-
TER, Gerhard; Reimerswalder Steig 26, 13503 Berlin
(DE). KRÜGER, Martin; Heeruferweg 7A, 13465 Berlin
(DE). JAUTELAT, Rolf; Driesener Strasse 1, 10439

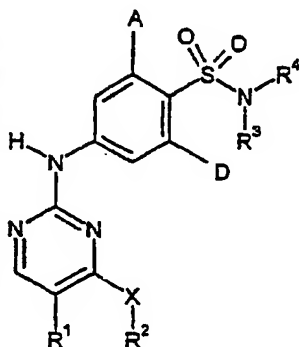
Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: SUBSTITUTED 2-ANILINOPYRIMIDINES AS CELL CYCLE KINASE INHIBITORS OR RECEPTOR TYROSINE
KINASE INHIBITORS, PRODUCTION OF SAID SUBSTANCES AND USE OF THE LATTER AS MEDICAMENTS

(54) Bezeichnung: SUBSTITUIERTE 2-ANILINOPYRIMIDINE ALS ZELLZYKLUS -KINASE ODER REZEPTORTYROSIN-
KINASE INHIBITOREN, DEREN HERSTELLUNG UND VERWENDUNG ALS ARZNEIMITTEL



(I),

(57) Abstract: The invention relates to pyrimidine derivatives of general formula (I), in which R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , A and D are defined as cited in the description, said derivatives being used as inhibitors of cyclin-dependent kinases and VEGF receptor kinases. The invention also relates to the production of said substances and to their use as a medicament for treating various diseases. The inventive compounds have a reduced affinity to carbonic anhydrase 2.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft Pyrimidinderivate der allgemeinen Formel (I), in der R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , A und D die in der Beschreibung enthaltenen Bedeutungen haben, als Inhibitoren von Zyklin-abhängigen Kinasen und VEGF-Rezeptortyrosinkinasen, deren Herstellung sowie deren Verwendung als Medikament zur Behandlung verschiedener Erkrankungen. Die Verbindungen haben eine reduzierte Affinität zu Carboanhydrasen-2.

WO 2006/034872 A1

Best Available Copy

**Substituierte 2- Anilinopyrimidine als Zellzyklus –kinase oder
Rezeptortyrosin-kinase Inhibitoren, deren Herstellung und Verwendung als
Arzneimittel**

- 5 Die vorliegende Erfindung betrifft substituierte 2-Anilino-pyrimidine als Zellzyklus –kinase und/oder Rezeptortyrosin-kinase Inhibitoren, deren Herstellung und Verwendung als Arzneimittel zur Behandlung oder Prophylaxe verschiedener Erkrankungen.
- 10 Die Zyklin-abhängigen Kinasen (cyclin-dependent kinase, CDK) sind eine Enzymfamilie, die eine wichtige Rolle bei der Regulation des Zellzyklus spielt und somit ein besonders interessantes Ziel für die Entwicklung kleiner inhibitorischer Moleküle darstellt. Selektive Inhibitoren der CDKs können zur Behandlung von Krebs oder anderen Erkrankungen, die Störungen der
- 15 Zellproliferation zur Ursache haben, verwendet werden.

Rezeptortyrosinkinasen und deren Liganden, die spezifisch die Funktion von Endothelzellen regulieren, sind in entscheidender Weise an der physiologischen, wie auch der pathogenen Angiogenese beteiligt. Von

20 besonderer Bedeutung ist hier das Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF) / VEGF-Rezeptor System. In pathologischen Situationen, die mit einer verstärkten Neovaskularisation einhergehen, wie z.B. Tumorerkrankungen, wurde eine erhöhte Expression von angiogenen Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren gefunden. Inhibitoren des VEGF/VEGF-Rezeptorsystems können

25 die Ausbildung eines Blutgefäßsystems im Tumor inhibieren, damit den Tumor von der Sauerstoff- und Nährstoffversorgung abscheiden und somit das Tumorstromung inhibieren.

Pyrimidine und Analoga sind bereits als Wirkstoffe beschrieben wie

30 beispielsweise die 2-Anilino-Pyrimidine als Fungizide (DE 4029650) oder substituierte Pyrimidinderivate zur Behandlung von neurologischen oder neurodegenerativen Erkrankungen (WO 99/19305). Als CDK-Inhibitoren werden unterschiedlichste Pyrimidinderivate beschrieben, beispielsweise Bis(anilino)-

pyrimidinderivate (WO 00/12486), 2-Amino-4-substituierte Pyrimidine (WO 01/14375), Purine (WO 99/02162), 5-Cyano-Pyrimidine (WO 02/04429), Anilinopyrimidine (WO 00/12486) und 2-Hydroxy-3-N,N-dimethylaminopropoxy-Pyrimidine (WO 00/39101).

5

Insbesondere wurden in WO 02/096888 und WO 03/7076437 Pyrimidinderivate offenbart, die inhibitorische Wirkungen bezüglich CDKs aufweisen.

Verbindungen, die eine Phenylsulfonamid-Gruppe enthalten sind als Inhibitoren der humanen Carbonanhydrasen (insbesondere Carbonhydrase-2) bekannt

10 und werden als Diuretica u.a. zur Behandlung von Glaukom eingesetzt. Das Stickstoffatom und die Sauerstoffatome des Sulfonamids binden über Wasserstoffbrücken mit dem Zink²⁺-Ion und der Aminosäure Thr 199 im aktiven Zentrum Carboanhydrase-2 und blockieren dadurch deren enzymatische Funktion (A. Casini, F. Abbate, A. Scozzafava, C.T. Supuran, *Bioorganic. Med.*
15 *Chem L.* **2003**, 1, 2759.3).

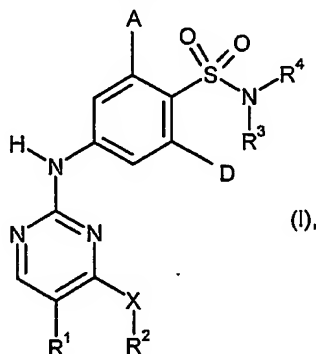
Eine Erhöhung der Spezifität der bekannten CDK-Inhibitoren durch Reduktion oder Elimination der inhibitorischen Eigenschaften hinsichtlich der Carboanhydrasen könnte zu einer Verbesserung der pharmakologischen Eigenschaften und einer Veränderung des Nebenwirkungsspektrums führen.

20

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es Verbindungen bereitzustellen, die verbesserte pharmazeutische Eigenschaften, insbesondere eine Reduzierung der Carboanhydrase-2-Inhibition, als die bereits bekannten CDK-Inhibitoren aufweisen.

25

Es wurde nun gefunden, dass Verbindungen der allgemeinen Formel I



- in der
- A und D jeweils unabhängig voneinander für Halogen, Hydroxy,
Cyano, für die Gruppe $-O-R^5$, für ein C_3-C_6 -Cycloalkyl oder
5 für ein gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder
verschieden mit Halogen oder Hydroxy oder mit der Gruppe
 $-O-R^5$ substituiertes C_1-C_4 -Alkyl, wobei der Alkylrest
gegebenenfalls verzweigt sein kann, stehen,
- X für $-NH-$, $-N(C_1-C_3\text{-Alkyl})-$ oder $-O-$, wobei der Alkylrest
10 gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht,
- R^1 für Halogen oder Cyano steht,
- R^2 für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder
verschieden mit C_1-C_3 -Alkoxy substituiertes Hydroxy- C_1-C_8 -
Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein
15 kann, oder für ein gegebenenfalls mit Hydroxy oder C_1-C_3 -
Alkyl substituiertes C_3-C_7 -Cycloalkyl, steht,
- R^3 und R^4 jeweils unabhängig voneinander für Wasserstoff oder für
gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden
mit Hydroxy oder der Gruppe $-O-R^5$ oder $-NR^6R^7$
20 substituiertes C_1-C_3 -Alkyl, wobei der Alkylrest
gegebenenfalls verzweigt sein kann, stehen,
- R^5 für gegebenenfalls mit Halogen substituiertes C_1-C_4 -Alkyl,
wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann,
steht und
- 25 R^6 und R^7 jeweils unabhängig voneinander für gegebenenfalls ein-
oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Hydroxy oder
der Gruppe $-O-R^5$ substituiertes C_1-C_3 -Alkyl steht,

sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze, zyclin-
30 abhängige Kinasen und VEGF-Rezeptortyrosinkinasen inhibieren,
wobei überraschenderweise die erfindungsgemäßen Substanzen gleichzeitig
eine stark reduzierte bis keine nachweisbare Carboanhydrase Inhibierung
aufweisen und

gleichzeitig eine verbesserte Inhibierung der VEGF-Rezeptortyrosinkinasen gegenüber der Inhibition von Aminopyrimidinen, die unsubstituiert oder einfach in Orthostellung zu dem Sulfonamidsubstituenten am Phenylring der 2-Anilino-pyrimidin substituiert sind, aufweisen.

5

Somit besitzen also die erfindungsgemäßen Verbindungen verbesserte pharmazeutische Eigenschaften, insbesondere durch die Reduktion der Carboanhydrase Inhibition und durch die verbesserte VEGF-Rezeptortyrosinkinase Inhibition, wodurch erfindungsgemäße Substanzen die Proliferation der Tumorzellen und/oder die Tumorangiogenese inhibieren können bei gleichzeitiger Reduktion von Nebenwirkungen durch Carboanhydrasewirkung.

Unter Alkyl ist jeweils ein geradkettiger oder verzweigter Alkylrest, wie beispielsweise Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, Isobutyl, sek. Butyl, tert. Butyl, Pentyl, Isopentyl, Hexyl, Heptyl, Octyl, Nonyl oder Decyl, zu verstehen.

Unter Alkoxy ist jeweils ein geradkettiger oder verzweigter Alkoxyrest, wie beispielsweise Methyloxy, Ethyloxy, Propyloxy, Isopropyloxy, Butyloxy, Isobutyloxy, sek. Butyloxy, Pentyloxy, Isopentyloxy, Hexyloxy, Heptyloxy, Octyloxy, Nonyloxy, Decyloxy, Undecyloxy oder Dodecyloxy zu verstehen.

Unter Cycloalkyl ist jeweils Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl oder Cycloheptyl zu verstehen.

25

Unter Halogen ist jeweils Fluor, Chlor, Brom oder Jod zu verstehen.

Unter Isomeren sind chemische Verbindungen der gleichen Summenformel aber unterschiedlicher chemischer Struktur zu verstehen. Man unterscheidet im allgemeinen Konstitutionsisomere und Stereoisomere.

30

Konstitutionsisomere besitzen die gleiche Summenformel, unterscheiden sich jedoch durch die Verknüpfungsweise ihrer Atome oder Atomgruppen. Hierzu

zählen Funktionelle Isomere, Stellungsisomere, Tautomere oder Valenzisomere.

Stereoisomere haben grundsätzlich die gleiche Struktur (Konstitution) – und damit auch die gleiche Summenformel – unterscheiden sich aber durch die räumliche Anordnung der Atome.

Man unterscheidet im allgemeinen Konfigurationsisomere und Konformationsisomere. Konfigurationsisomere sind Stereoisomere, die sich nur durch Bindungsbruch ineinander überführen lassen. Hierzu zählen Enantiomere, Diastereomere und E / Z (cis / trans) Isomere.

Enantiomere sind Stereoisomere, die sich wie Bild und Spiegelbild zueinander verhalten und keine Symmetrieebene aufweisen. Alle Stereoisomere, die keine Enantiomere sind, bezeichnet man als Diastereomere. Ein Spezialfall sind E / Z (cis / trans) Isomere an Doppelbindungen.

Konformationsisomere sind Stereoisomere, die sich durch die Drehung von Einfachbindungen ineinander überführen lassen.

Zur Abgrenzung der Isomerie-Arten voneinander siehe auch die IUPAC Regeln Sektion E (Pure Appl. Chem. **45**, 11-30, 1976).

20

Ist eine saure Funktion enthalten, sind als Salze die physiologisch verträglichen Salze organischer und anorganischer Basen geeignet, wie beispielsweise die gut löslichen Alkali- und Erdalkalisalze sowie N-Methyl-glukamin, Dimethyl-glukamin, Ethyl-glukamin, Lysin, 1,6-Hexadiamin, Ethanolamin, Glukosamin, Sarkosin, Serinol, Tris-hydroxy-methyl-amino-methan, Aminopropandiol, Sovak-Base, 1-Amino-2,3,4-butantriol.

25

Ist eine basische Funktion enthalten, sind die physiologisch verträglichen Salze organischer und anorganischer Säuren geeignet wie Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Zitronensäure, Weinsäure u.a.

30

Unter Krebs sind solide Tumoren oder Leukämie, insbesondere Ataxia-telangiectasia, Basalzellkarzinom, Blasenkarzinom, Gehirntumor, Brustkrebs,

Cervix Karzinom, Tumoren des Zentralnervensystems, Kolorektalkarzinom, Endometriales Karzinom, Magenkarzinom, Gastrointestinales Karzinom, Kopf- und Halstumore, Akute lymphozytische Leukämie, Akute myelogene Leukämie, Chronische lymphozytische Leukämie, Chronische myelogene Leukämie,
 5 Haarzell Leukämie, Leberkarzinom, Lungentumor, Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom, Kleinzelliges Lungenkarzinom, B-Zell Lymphom, Hodgkin's Lymphom, Non-Hodgkin's Lymphom, T-Zell Lymphom, Melanom, Mesotheliom, Myelom, Myom, Tumore des Oesophagus, orale Tumore, Ovarialkarzinom, Pankreastumore, Prostatatumore, Nierenkarzinom, Sarkom, Kaposi's Sarkom,
 10 Leiomyosarkom, Hautkrebs, Plattenzellkarzinom, Hodenkrebs oder Schilddrüsenkrebs.

Eine besonders wirksame Untergruppe sind solche Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der

15 X für –NH- oder –O- steht,
 R² für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit C₁-C₃-Alkoxy substituiertes Hydroxy-C₁-C₈-Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für C₃-C₇-Cycloalkyl, steht
 R³ und R⁴ für Wasserstoff stehen und
 20 R⁵ für C₁-C₄-Alkyl steht, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht, und
 A, D und R¹ die oben angegebenen Bedeutungen besitzen, sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.

25 Eine weitere besonders wirksame Untergruppe sind solche Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der

A und D jeweils unabhängig voneinander für Halogen, Hydroxy, Cyano oder für die Gruppe –O-R⁵ oder für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Halogen oder Hydroxy oder mit der
 30 Gruppe –O-R⁵ substituiertes C₁-C₄-Alkyl oder C₃-C₆-Cycloalkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, stehen,
 X für –NH-, –N(C₁-C₃-Alkyl)- oder –O-, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht,

- R^1 für Halogen oder Cyano steht,
 R^2 für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit C_1 - C_3 -Alkoxy substituiertes Hydroxy- C_1 - C_8 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht,
5 R^3 und R^4 jeweils unabhängig voneinander für Wasserstoff stehen und
 R^5 für $-CF_3$ oder C_1 - C_4 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht,

sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.

- 10 Von großer Bedeutung sind solche Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der

A und D jeweils unabhängig voneinander für Halogen, Hydroxy, Cyano, für die Gruppe $-O-R^5$, für ein C_3 - C_6 -Cycloalkyl oder für ein gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit

- 15 Halogen oder Hydroxy substituiertes C_1 - C_4 -Alkyl stehen, und

X, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 und R^5 die oben angegebenen Bedeutungen besitzen, sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.

- Eine weitere Untergruppe von großer Bedeutung sind solche Verbindungen der
20 allgemeinen Formel I, in der

A und D jeweils unabhängig voneinander für Halogen, Hydroxy, Cyano oder die Gruppe $-O-R^5$ oder für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Halogen substituiertes C_1 - C_4 -Alkyl oder C_3 - C_6 -Cycloalkyl stehen,

- 25 X für $-NH-$ oder $-O-$ stehen,

R^1 für Halogen steht,

R^2 für gegebenenfalls mit der Gruppe $-O-R^5$ substituiertes Hydroxy- C_1 - C_8 -Alkyl steht,

R^3 und R^4 für Wasserstoff stehen und

- 30 R^5 für C_1 - C_4 -Alkyl steht,

sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.

Von besonders großer Bedeutung sind Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der

- A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄-Alkyl oder Halogen stehen,
- 5 X für -NH- oder -O- steht,
R¹ für Halogen oder Cyano steht,
R² für ein Hydroxy-C₁-C₈-Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für ein C₃-C₇-Cycloalkyl, steht
R³ und R⁴ für Wasserstoff stehen und
10 R⁵ für C₁-C₄-Alkyl steht,
sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.

Eine weitere Gruppe von besonders großer Bedeutung sind Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der

- 15 A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄-Alkyl stehen,
X für -NH- oder -O- stehen,
R¹ für Halogen steht,
R² für gegebenenfalls mit der Gruppe -O-R⁵ substituiertes Hydroxy-C₁-C₈-Alkyl steht,
20 R³ und R⁴ für Wasserstoff stehen,
sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.

Die größte Bedeutung haben Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄-Alkyl stehen,

- 25 X für -NH- oder -O- steht,
R¹ für Halogen steht,
R² für ein Hydroxy-C₃-C₅-Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht
R³ oder R⁴ für Wasserstoff stehen,
30 sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze und

Verbindungen der allgemeinen Formel I, in der.

A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄ Alkyl stehen

X für –NH– steht,

R¹ für Cyano steht,

5 R² für ein C₃-C₇ –Cycloalkyl steht,

R³ oder R⁴ für Wasserstoff stehen,

sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze

A und D können jeweils unabhängig voneinander stehen für:

10 Halogen, Hydroxy, Cyano, die Gruppe –O-R⁵, ein C₃-C₆-Cycloalkyl oder ein
gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Halogen oder
Hydroxy oder mit der Gruppe –O-R⁵ substituiertes C₁-C₄-Alkyl, wobei der
Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, stehen,.

Bevorzugt haben A und D jeweils unabhängig voneinander folgende Bedeutung:

15 Halogen, Hydroxy, Cyano, die Gruppe –O-R⁵, ein C₃-C₆-Cycloalkyl oder ein
gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Halogen oder
Hydroxy substituiertes C₁-C₄-Alkyl stehen,

Mehr bevorzugt stehen A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄-Alkyl
oder Halogen.

20 Am bevorzugsten stehen A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄-
Alkyl, insbesondere aber beide für Methyl.

X kann stehen für:

–NH–, –N(C₁-C₃-Alkyl)– oder –O–, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt
25 sein kann.

Bevorzugt hat X die Bedeutung –NH– oder –O–, am bevorzugsten –NH–.

R¹ kann stehen für:

Halogen oder Cyano.

30 Bevorzugt hat R¹ die Bedeutung Br.

R^2 kann stehen für:

gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit C_1 - C_3 -Alkoxy substituiertes Hydroxy- C_1 - C_8 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für ein gegebenfalls mit Hydroxy oder C_1 - C_3 -Alkyl

5 substituiertes C_3 - C_7 -Cycloalkyl ,

Bevorzugt hat R^2 die Bedeutung:

gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit C_1 - C_3 -Alkoxy substituiertes Hydroxy- C_1 - C_8 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für ein C_3 - C_7 -Cycloalkyl .

10 Mehr bevorzugt hat R^2 die Bedeutung:

Hydroxy- C_1 - C_8 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenfalls verzweigt sein kann, oder C_3 - C_7 -Cycloalkyl.

Noch mehr bevorzugt steht R^2 für ein Hydroxy- C_2 - C_6 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenfalls verzweigt sein kann oder für ein C_5 - oder- C_6 -Cycloalkyl.

15 Am bevorzugsten hat R^2 folgende Bedeutung:

Hydroxy- C_3 - C_5 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenfalls verzweigt sein kann, oder Cyclohexyl.

Verbindungen der allgemeinen Formel I, bei denen R^2 ein gegebenfalls ein-

20 oder mehrfach, gleich oder verschieden mit C_1 - C_3 -Alkoxy substituiertes Hydroxy- C_1 - C_8 -Alkyl, das gegebenenfalls verzweigt ist, erfolgt die Bindung zwischen X und R^2 bevorzugt über ein nicht endständiges C-Atom von R^2 .

R^3 und R^4 können jeweils unabhängig voneinander stehen für:

25 Wasserstoff oder für ein gegebenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Hydroxy oder der Gruppe $-O-R^5$ oder $-NR^6R^7$ substituiertes C_1 - C_3 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann.

Bevorzugt haben R^3 und R^4 die Bedeutung Wasserstoff.

30 R^5 kann stehen für:

ein gegebenfalls mit Halogen substituiertes C_1 - C_4 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenfalls verzweigt sein kann.

Bevorzugt hat R^5 die Bedeutung C_1 - C_4 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann.

R^6 und R^7 können jeweils unabhängig stehen für:

- 5 ein gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Hydroxy oder der Gruppe $-O-R^5$ substituiertes C_1 - C_3 -Alkyl.

Ebenfalls als von der vorliegenden Erfindung als erfasst anzusehen sind alle Verbindungen, die sich ergeben durch jede mögliche Kombination der oben
10 genannten möglichen, bevorzugten oder bevorzugsten Bedeutungen der Substituenten.

Besondere Ausführungsformen der Erfindung bestehen darüber hinaus in Verbindungen, die sich durch Kombination der direkt in den Beispielen
15 offenbarten Bedeutungen für die Substituenten ergeben.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen inhibieren im wesentlichen Zyklin-
abhängige Kinasen, worauf auch deren Wirkung zum Beispiel gegen Krebs, wie
solide Tumoren und Leukämie, Autoimmunerkrankungen wie Psoriasis,
20 Alopezie, und Multiple Sklerose, Chemotherapeutika-induzierte Alopezie und
Mukositis, kardiovaskuläre Erkrankungen, wie Stenosen, Arteriosklerosen und
Restenosen, infektiöse Erkrankungen, wie z. B. durch unizelluläre Parasiten,
wie Trypanosoma, Toxoplasma oder Plasmodium, oder durch Pilze
hervorgerufen, nephrologische Erkrankungen, wie z. B. Glomerulonephritis,
25 chronische neurodegenerative Erkrankungen, wie Huntington's Erkrankung,
amyotrophe Lateralsklerose, Parkinsonsche Erkrankung, AIDS Dementia und
Alzheimer'sche Erkrankung, akute neurodegenerative Erkrankungen, wie
Ischämien des Gehirns und Neurotraumata, virale Infektionen, wie z. B.
Cytomegalus-Infektionen, Herpes, Hepatitis B und C, und HIV Erkrankungen
30 basiert.

Der eukaryote Zellteilungszyklus stellt die Duplikation des Genoms und seine
Verteilung auf die Tochterzellen sicher, indem er eine koordinierte und regulierte

Abfolge von Ereignissen durchläuft. Der Zellzyklus wird in vier aufeinanderfolgende Phasen eingeteilt: die G1 Phase repräsentiert die Zeit vor der DNA-Replikation, in der die Zelle wächst und für externe Stimuli empfänglich ist. In der S Phase repliziert die Zelle ihre DNA, und in der G2 Phase bereitet sie sich auf den Eintritt in die Mitose vor. In der Mitose (M Phase) wird die replizierte DNA getrennt und die Zellteilung vollzogen.

Die Zyklin-abhängigen Kinasen (CDKs), eine Familie von Serin/Threonin-Kinasen, deren Mitglieder die Bindung eines Zyklins (Cyc) als regulatorische Untereinheit zu ihrer Aktivierung benötigen, treiben die Zelle durch den Zellzyklus. Unterschiedliche CDK/Cyc Paare sind in den verschiedenen Phasen des Zellzyklus aktiv. Für die grundlegende Funktion des Zellzyklus bedeutende CDK/Cyc Paare sind beispielsweise CDK4(6)/CycD, CDK2/CycE, CDK2/CycA, CDK1/CycA und CDK1/CycB. Einige Mitglieder der CDK-Enzymfamilie haben eine regulatorische Funktion indem sie die Aktivität der vorgenannten Zellzyklus-CDKs beeinflussen, während anderen Mitgliedern der CDK-Enzymfamilie noch keine bestimmte Funktion zugeordnet werden konnte. Eine von diesen, CDK5, zeichnet sich dadurch aus, dass sie eine atypische, von den Zyklinen abweichende, regulatorische Untereinheit besitzt (p35), und ihre Aktivität im Gehirn am höchsten ist.

Der Eintritt in den Zellzyklus und das Durchlaufen des "Restriction Point", der die Unabhängigkeit einer Zelle von weiteren Wachstumssignalen für den Abschluss der begonnenen Zellteilung markiert, werden durch die Aktivität der CDK4(6)/CycD und CDK2/CycE Komplexe kontrolliert. Das wesentliche Substrat dieser CDK-Komplexe ist das Retinoblastoma-Protein (Rb), das Produkt des Retinoblastoma Tumorsuppressor Gens. Rb ist ein transkriptionelles Ko-Repressor Protein. Neben anderen noch weitgehend unverstandenen Mechanismen, bindet und inaktiviert Rb Transkriptionsfaktoren vom E2F-Typ, und bildet transkriptionelle Repressorkomplexe mit Histon-Deacetylasen (HDAC) (Zhang H.S. *et al.* (2000). Exit from G1 and S phase of the cell cycle is regulated by repressor complexes containing HDAC-Rb-hSWI/SNF and Rb-hSWI/SNF. *Cell* 101, 79-89). Durch die Phosphorylierung des Rb durch CDKs

werden gebundene E2F Transkriptionsfaktoren freigesetzt und führen zu transkriptioneller Aktivierung von Genen, deren Produkte für die DNA Synthese und die Progression durch die S-Phase benötigt werden. Zusätzlich bewirkt die Rb-Phosphorylierung die Auflösung der Rb-HDAC Komplexe, wodurch weitere Gene aktiviert werden. Die Phosphorylierung von Rb durch CDK's ist mit dem Überschreiten des "Restriction Point" gleichzusetzen. Für die Progression durch die S-Phase und deren Abschluss ist die Aktivität der CDK2/CycE und CDK2/CycA Komplexe notwendig, z. B. wird die Aktivität der Transkriptionsfaktoren vom E2F-Typ mittels Phosphorylierung durch CDK2/CycA abgeschaltet sobald die Zellen in die S-Phase eingetreten sind. Nach vollständiger Replikation der DNA steuert die CDK1 im Komplex mit CycA oder CycB den Eintritt und das Durchlaufen der Phasen G2 und M (Abb. 1).

Entsprechend der außerordentlichen Bedeutung des Zellteilungszyklus ist das Durchlaufen des Zyklus streng reguliert und kontrolliert. Die Enzyme, die für die Progression durch den Zyklus notwendig sind, müssen zu dem richtigen Zeitpunkt aktiviert werden, und auch wieder abgeschaltet werden sobald die entsprechende Phase durchlaufen ist. Entsprechende Kontrollpunkte ("Checkpoints") arretieren die Progression durch den Zellzyklus falls DNA-Schäden detektiert werden, oder die DNA-Replikation, oder der Aufbau des Spindelapparates noch nicht beendet ist.

Die Aktivität der CDKs wird durch verschiedene Mechanismen, wie Synthese und Degradation der Zykline, Komplexierung der CDKs mit den entsprechenden Zyklinen, Phosphorylierung und Dephosphorylierung regulatorischer Threonin- und Tyrosin-Reste, und die Bindung natürlicher inhibitorischer Proteine, direkt kontrolliert. Während die Proteinmenge der CDKs in einer proliferierenden Zelle relativ konstant ist, oszilliert die Menge der einzelnen Zykline mit dem Durchlaufen des Zyklus. So wird zum Beispiel die Expression von CycD während der frühen G1 Phase durch Wachstumsfaktoren stimuliert, und die Expression von CycE wird nach Überschreiten des "Restriction Point" durch die Aktivierung der Transkriptionsfaktoren vom E2F-Typ induziert. Die Zykline selbst werden durch Ubiquitin-vermittelte Proteolyse abgebaut. Aktivierende und inaktivierende Phosphorylierungen regulieren die Aktivität der CDK's, zum

Beispiel phosphorylieren CDK-aktivierende Kinasen (CAKs) Thr160/161 der CDK1, wohingegen die Familie der Wee1/Myt1 Kinasen CDK1 durch Phosphorylierung von Thr14 und Tyr15 inaktivieren. Diese inaktivierenden Phosphorylierungen können durch cdc25 Phosphatasen wieder aufgehoben werden. Sehr bedeutsam ist die Regulation der Aktivität der CDK/Cyc-Komplexe durch zwei Familien natürlicher CDK Inhibitorproteine (CKIs), den Proteinprodukten der p21 Genfamilie (p21, p27, p57) und der p16 Genfamilie (p15, p16, p18, p19). Mitglieder der p21 Familie binden an Zyklin-Komplexe der CDKs 1,2,4,6, inhibieren aber nur Komplexe die CDK1 oder CDK2 enthalten. Mitglieder der p16 Familie sind spezifische Inhibitoren der CDK4- und CDK6-Komplexe.

Oberhalb dieser komplexen direkten Regulation der Aktivität der CDKs liegt die Ebene der Kontrollpunkt-Regulation. Kontrollpunkte erlauben der Zelle das geordnete Ablaufen der einzelnen Phasen während des Zellzyklusses zu verfolgen. Die wichtigsten Kontrollpunkte liegen am Übergang von G1 nach S und von G2 nach M. Der G1-Kontrollpunkt stellt sicher, dass die Zelle keine DNA-Synthese beginnt, falls sie nicht entsprechend ernährt ist, mit anderen Zellen oder dem Substrat korrekt interagiert, und ihre DNA intakt ist. Der G2/M Kontrollpunkt stellt die vollständige Replikation der DNA und den Aufbau der mitotischen Spindel sicher, bevor die Zelle in die Mitose eintritt. Der G1 Kontrollpunkt wird von dem Genprodukt des p53 Tumorsuppressorgens aktiviert. p53 wird nach Detektion von Veränderungen im Metabolismus oder der genomischen Integrität der Zelle aktiviert und kann entweder einen Stopp der Zellzyklusprogression oder Apoptose auslösen. Dabei spielt die transkriptionelle Aktivierung der Expression des CDK Inhibitorproteins p21 durch p53 eine entscheidende Rolle. Ein zweiter Zweig des G1 Kontrollpunktes umfasst die Aktivierung der ATM und Chk1 Kinasen nach DNA-Schädigung durch UV-Licht oder ionisierende Strahlung und schließlich die Phosphorylierung und den nachfolgenden proteolytischen Abbau der cdc25A Phosphatase (Mailand N. *et al.* (2000). Rapid destruction of human cdc25A in response to DNA damage. *Science* 288, 1425-1429). Daraus resultiert eine Arretierung des Zellzyklusses, da die inhibitorische Phosphorylierung der CDKs nicht entfernt wird. Nach

Aktivierung des G2/M Kontrollpunktes durch Schädigung der DNA sind beide Mechanismen in ähnlicher Weise daran beteiligt, die Progression durch den Zellzyklus zu stoppen.

- 5 Der Verlust der Regulation des Zellzyklusses und der Verlust der Funktion der Kontrollpunkte sind Charakteristika von Tumorzellen. Der CDK-Rb-Signalweg ist in über 90% humaner Tumorzellen von Mutationen betroffen. Diese Mutationen, die schließlich zur inaktivierenden Phosphorylierung des RB führen, schließen die Überexpression von D- und E-Zyklinen durch Genamplifikation oder
- 10 chromosomale Translokationen, inaktivierende Mutationen oder Deletionen von CDK-Inhibitoren des p16-Typs, sowie erhöhten (p27) oder verminderten (CycD) Proteinabbau ein. Die zweite Gruppe von Genen, die durch Mutationen in Tumorzellen getroffen sind, kodiert für Komponenten der Kontrollpunkte. So ist p53, das essentiell für die G1 und G2/M Kontrollpunkte ist, das am häufigsten
- 15 mutierte Gen in humanen Tumoren (ca. 50%). In Tumorzellen, die p53 ohne Mutation exprimieren, wird es häufig aufgrund einer stark erhöhten Proteindegradation inaktiviert. In ähnlicher Weise sind die Gene anderer für die Funktion der Kontrollpunkte notwendiger Proteine von Mutationen betroffen, zum Beispiel ATM (inaktivierende Mutationen) oder cdc25 Phosphatasen
- 20 (Überexpression).

- Überzeugende experimentelle Daten deuten darauf hin, dass CDK1/Cyc und CDK2/Cyc-Komplexe eine entscheidende Position während der Zellzyklusprogression einnehmen: (1) Sowohl dominant-negative Formen der
- 25 CDK2 oder der CDK1, wie die transkriptionelle Repression der CDK2 Expression durch anti-sense Oligonukleotide bewirken einen Stopp der Zellzyklusprogression. (2) Die Inaktivierung des CycA Gens in Mäusen ist letal. (3) Die Störung der Funktion des CDK2/CycA Komplexes in Zellen mittels zell-permeabler Peptide führte zur Tumorzell-selektiven Apoptose (Chen Y.N.P. *et al.* (1999). Selective killing of transformed cells by cyclin/cyclin-dependent
- 30 kinase 2 antagonists. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 4325-4329). (4) CDK1/Cyc Komplexe scheinen die funktionelle Inaktivierung von CDK2/CycE Komplexen in Mäusen, bei denen das CDK2 Gen oder die Cyclin E Gene inaktiviert wurden

und überraschenderweise keinen letalen Phänotyp zeigten, zu kompensieren (Aleem E. *et al.* (2005) Cdc2-cyclin E complexes regulate the G1/S phase transition. *Nat. Cell Biol.* 7, 831-836).

- Veränderungen der Zellzykluskontrolle spielen nicht nur bei Krebserkrankungen
- 5 ein Rolle. Der Zellzyklus wird durch eine Reihe von Viren, sowohl durch transformierende, wie durch nicht-transformierende, aktiviert um die Vermehrung der Viren in der Wirtszelle zu ermöglichen. Der fälschliche Eintritt in den Zellzyklus von normalerweise post-mitotischen Zellen wird mit verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht.
- 10 Die Mechanismen der Zellzyklusregulation, ihrer Veränderungen in Krankheiten und eine Vielzahl von Ansätzen zur Entwicklung von Inhibitoren der Zellzyklusprogression und speziell der CDKs wurden bereits in mehreren Publikationen ausführlich zusammenfassend beschrieben (Sielecki T.M. *et al.* (2000). Cyclin-dependent kinase inhibitors: useful targets in cell cycle regulation. *J. Med. Chem.* 43, 1-18; Fry D.W. & Garrett M.D. (2000). Inhibitors of cyclin-dependent kinases as therapeutic agents for the treatment of cancer. *Curr. Opin. Oncol. Endo. Metab. Invest. Drugs* 2, 40-59; Rosania G.R. & Chang Y.T. (2000). Targeting hyperproliferative disorders with cyclin dependent kinase inhibitors. *Exp. Opin. Ther. Patents* 10, 215-230; Meijer L. *et al.* (1999).
- 20 Properties and potential applications of chemical inhibitors of cyclin-dependent kinases. *Pharmacol. Ther.* 82, 279-284; Senderowicz A.M. & Sausville E.A. (2000). Preclinical and clinical development of cyclin-dependent kinase modulators. *J. Natl. Cancer Inst.* 92, 376-387).
- 25 Zur Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen als Arzneimittel werden diese in die Form eines pharmazeutischen Präparats gebracht, das neben dem Wirkstoff für die enterale oder parenterale Applikation geeignete pharmazeutische, organische oder anorganische inerte Trägermaterialien, wie zum Beispiel, Wasser, Gelatine, Gummi arabicum, Milchzucker, Stärke,
- 30 Magnesiumstearat, Talk, pflanzliche Öle, Polyalkylenglykole usw. enthält. Die pharmazeutischen Präparate können in fester Form, zum Beispiel als Tabletten, Dragees, Suppositorien, Kapseln oder in flüssiger Form, zum Beispiel als Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen vorliegen. Gegebenenfalls enthalten

sie darüber hinaus Hilfsstoffe, wie Konservierungs-, Stabilisierungs-, Netzmittel oder Emulgatoren; Salze zur Veränderung des osmotischen Drucks oder Puffer.

Diese pharmazeutischen Präparate sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden
5 Erfindung.

Für die parenterale Anwendung sind insbesondere Injektionslösungen oder Suspensionen, insbesondere wässrige Lösungen der aktiven Verbindungen in polyhydroxyethoxyliertem Rizinusöl, geeignet.

Als Trägersysteme können auch grenzflächenaktive Hilfsstoffe wie Salze der
10 Gallensäuren oder tierische oder pflanzliche Phospholipide, aber auch Mischungen davon sowie Liposomen oder deren Bestandteile verwendet werden.

Für die orale Anwendung sind insbesondere Tabletten, Dragees oder Kapseln mit Talkum und/oder Kohlenwasserstoffträger oder -binder, wie zum Beispiel
15 Lactose, Mais- oder Kartoffelstärke, geeignet. Die Anwendung kann auch in flüssiger Form erfolgen, wie zum Beispiel als Saft, dem gegebenenfalls ein Süßstoff beigelegt ist.

Die enteralen, parenteralen und oralen Applikationen sind ebenfalls
20 Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Die Dosierung der Wirkstoffe kann je nach Verabfolgungsweg, Alter und Gewicht des Patienten, Art und Schwere der zu behandelnden Erkrankung und ähnlichen Faktoren variieren. Die tägliche Dosis beträgt 0,5-1000 mg, vorzugs-
25 weise 50-200 mg, wobei die Dosis als einmal zu verabreichende Einzeldosis oder unterteilt in 2 oder mehreren Tagesdosen gegeben werden kann.

Erfindungsgemäße Verbindungen der allgemeinen Formel I inhibieren zum anderen auch Rezeptortyrosinkinasen und deren Liganden, die spezifisch die
30 Funktion von Endothelzellen regulieren, inhibieren. Rezeptortyrosinkinasen und deren Liganden, die spezifisch die Funktion von Endothelzellen regulieren, sind in entscheidender Weise an der physiologischen, wie auch der pathogenen Angiogenese beteiligt. Von besonderer Bedeutung ist hier das VEGF/VEGF-

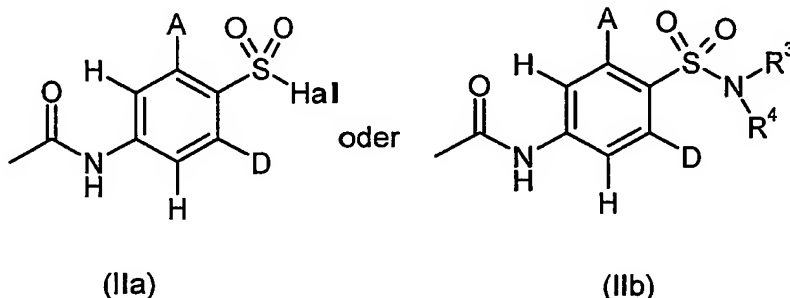
Rezeptor System. In pathologischen Situationen die mit einer verstärkten Neovaskularisation einhergehen wurde eine erhöhte Expression von angiogenen Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren gefunden. So exprimieren die meisten soliden Tumoren große Mengen an VEGF, und die Expression der VEGF-Rezeptoren ist vorzugsweise in den Endothelzellen, die in der Nähe der Tumoren liegen oder durch diese hindurchführen, deutlich erhöht (Plate et al., Cancer Res. 53, 5822-5827, 1993). Die Inaktivierung des VEGF/VEGF-Rezeptorsystems durch VEGF-neutralisierende Antikörper (Kim et al., Nature 362, 841-844, 1993), retrovirale Expression dominant-negativer VEGF-Rezeptorvarianten (Millauer et al., Nature 367, 576-579, 1994), rekomanter VEGF-neutralisierender Rezeptorvarianten (Goldman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 8795-8800, 1998), oder niedermolekularer Inhibitoren der VEGF-Rezeptortyrosinkinase (Fong et al., Cancer Res. 59, 99-106, 1999; Wedge et al., Cancer Res. 60, 970-975, 2000; Wood et al., Cancer Res. 60, 2178-2189, 2000) resultierten in einem verringerten Tumorwachstum und einer verringerten Tumovaskularisierung. Somit ist die Hemmung der Angiogenese ein möglicher Behandlungsmodus für Tumorerkrankungen.

Erfindungsgemäße Verbindungen können dementsprechend entweder Zyklin-abhängigen Kinasen, wie CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 und CDK9, und VEGF-Rezeptortyrosinkinasen oder Zyklin-abhängigen Kinasen oder VEGF-Rezeptortyrosinkinasen inhibieren. Diese Wirkungen tragen dazu bei, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden können bei der Behandlung von Krebs, Angiofibroma, Arthritis, Augenerkrankungen, Autoimmunerkrankungen, Chemotherapeutika-induzierter Alopezie und Mukositis, Crohn-Krankheit, Endometriose, fibrotische Erkrankungen, Hämangioma, kardiovaskulären Erkrankungen, infektiösen Erkrankungen, nephrologischen Erkrankungen, chronischen und akuten neurodegenerativen Erkrankungen, sowie von Verletzungen des Nervengewebes, viralen Infektionen, zur Hemmung der Reocclusion von Gefäßen nach Ballonkatheterbehandlung, bei der Gefäßprothetik oder nach dem Einsetzen von mechanischen Vorrichtungen zum Offenhalten von

- Gefäßen, wie z. B. Stents, als Immunsuppressiva, zur Unterstützung der narbenfreien Wundheilung, bei Altersflecken und bei Kontaktdermatitis, wobei unter Krebs solide Tumoren, Tumor- oder Metastasenwachstum, Kaposi Sarkom, Morbus Hodgkin und Leukämie,
- 5 unter Arthritis, rheumatoide Arthritis, unter Augenerkrankungen, diabetische Retinopathie, Neovaskulares Glaukom,
- unter Autoimmunerkrankungen Psoriasis, Alopezie und Multiple Sklerose, unter fibrotische Erkrankungen, Leberzirrhose, mesangialzellproliferative Erkrankungen, Arteriosklerose,
- 10 unter infektiösen Erkrankungen durch unizelluläre Parasiten hervorgerufene Erkrankungen,
- unter kardiovaskulären Erkrankungen Stenosen, wie z. B. Stent-induzierte Restenose, Arteriosklerosen und Restenosen,
- unter nephrologischen Erkrankungen Glomerulonephritis, diabetische
- 15 Nephropatie, maligne Nephrosklerose, thrombische mikroangiopatische Syndrome, Transplantationsabstoßungen und Glomerulopathie,
- unter chronisch neurodegenerativen Erkrankungen Huntington's Erkrankung, amyotrophe Lateralsklerose, Parkinsonsche Erkrankung, AIDS Dementia und Alzheimer'sche Erkrankung,
- 20 unter akut neurodegenerativen Erkrankungen Ischämien des Gehirns und Neurotraumata, und
- unter viralen Infektionen Cytomegalus-Infektionen, Herpes, Hepatitis B oder C, und HIV Erkrankungen zu verstehen sind.
- 25 Ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel zur Behandlung der oben aufgeführten Erkrankungen, die mindestens eine Verbindung gemäß der allgemeinen Formel (I) enthalten, sowie Arzneimittel mit geeigneten Formulierungs- und Trägerstoffen.
- 30 Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel I sind unter anderem hervorragende Inhibitoren der Zyklin-abhängigen Kinasen, wie CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 und CDK9, oder der VEGF-Rezeptortyrosinkinasen.

Die Isomerengemische können nach üblichen Methoden wie beispielsweise Kristallisation, Chromatographie oder Salzbildung in die Enantiomeren bzw. E/Z-Isomeren aufgetrennt werden.

- 5 Die Herstellung der Salze erfolgt in üblicher Weise, indem man eine Lösung der Verbindung der Formel I mit der äquivalenten Menge oder einem Überschuß einer Base oder Säure, die gegebenenfalls in Lösung ist, versetzt und den Niederschlag abtrennt oder in üblicher Weise die Lösung aufarbeitet.
- 10 Die für die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel I vorzugsweise verwendeten Zwischenprodukte der allgemeinen Formeln (IIa) oder (IIb)



15

in der A, D, R³ und R⁴ die in der allgemeinen Formel (I) angegebenen Bedeutungen haben, sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

- 20 Soweit die Herstellung der Ausgangsverbindungen nicht beschrieben wird, sind diese bekannt oder analog zu bekannten Verbindungen oder hier beschriebenen Verfahren herstellbar. Es ist ebenfalls möglich, alle hier beschriebenen Umsetzungen in Parallel-Reaktoren oder mittels kombinatorischer Arbeitstechniken durchzuführen.
- 25 Die Isomerengemische können nach üblichen Methoden wie beispielsweise Kristallisation, Chromatographie oder Salzbildung in die Enantiomeren bzw. E/Z-Isomeren aufgetrennt werden.

Die Herstellung der Salze erfolgt in üblicher Weise, indem man eine Lösung der Verbindung der Formel I mit der äquivalenten Menge oder einem Überschuss einer Base oder Säure, die gegebenenfalls in Lösung ist, versetzt und den Niederschlag abtrennt oder in üblicher Weise die Lösung aufarbeitet.

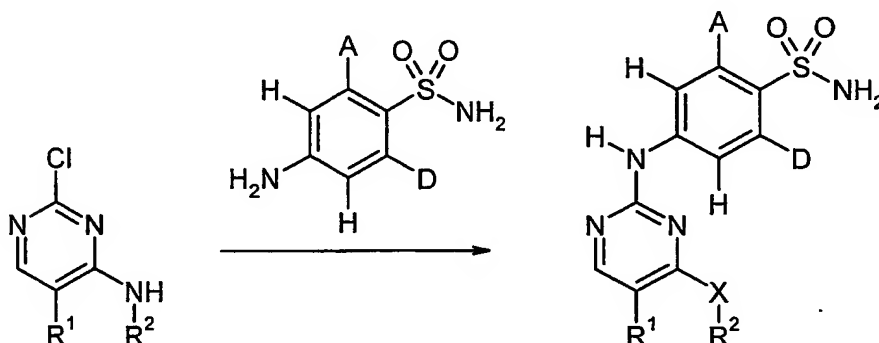
5

Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen

Die nachfolgenden Beispiele erläutern die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen, ohne den Umfang der beanspruchten Verbindungen auf diese

10 Beispiele zu beschränken.

I. Verfahrensvariante 1

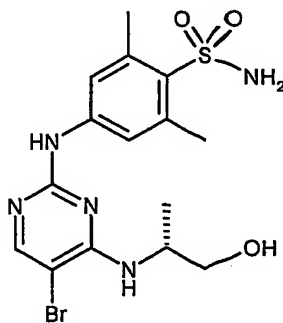


Die Substituenten R^1 , R^2 , A und D haben die in der allgemeinen Formel (I) angegebene Bedeutung.

15

Beispiel 1

Herstellung von 4-[5-Brom-4-((R)-2-hydroxy-1-methyl-ethylamino)-pyrimidin-2-ylamino]-2,6-dimethyl-benzolsulfonamid

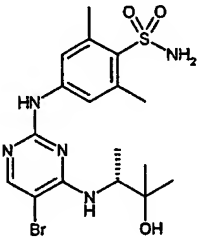
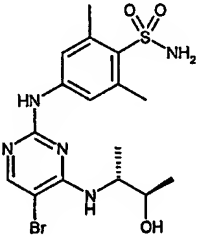
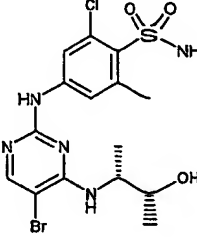


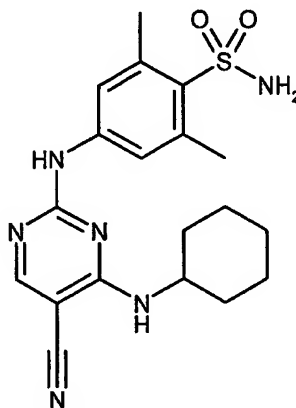
20

- 180 mg (0,9 mmol) 4-Amino-2,6-dimethyl-benzolsulfonamid in 3 ml Acetonitril werden mit 0,25 ml einer 4 molaren Lösung von Chlorwasserstoff in Dioxan und 0,5 ml Wasser versetzt. Es werden 266 mg (1,0 mmol) (*R*)-2-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-propan-1-ol zugegeben und der Ansatz wird 16 h unter Rückfluss gerührt. Nach dem Erkalten wird der ausgefallene Feststoff abgesaugt und sukzessive mit Acetonitril, Ethanol, Wasser und Diisopropylether gewaschen. Nach dem Trocknen erhält man 349 mg (0,8 mmol; entsprechend 88% der Theorie) des Produktes.
- 10 ¹H-NMR (DMSO-D₆): 10.53 (s,1H), 8.29 (s,1H), 7.70 (d,1H), 7.44 (s,2H), 7.20 (s,2H), 4.25 (m,1H), 3.53 (m,2H), 2.45 (s,6H), 1.20 (d,3H).
MS: 430 (ES).

Beispiele 2 bis 4

- 15 In analoger Verfahrensweise zu der oben beschriebenen Verfahrensvariante werden auch die nachfolgenden Verbindungen hergestellt:

			
Beispiel	2	3	4
¹ HNMR (DMSO-D ₆)	10.44 (s,1H) 8.19 (s,1H) 7.47 (s,2H) 7.20 (s,2H) 6.95 (d,1H) 4.10 (m,1H) 2.58 (s,6H) 1.20 (m,9H)	10.45 (s,1H) 8.29 (s,1H) 7.48 (s,2H) 7.38 (d,1H) 7.20 (s,2H) 4.05 (m,1H) 3.80 (m,1H) 2.58 (s,6H) 1.24 (d,3H) 1.08 (d,3H)	10.25 (s,1 H) 8.20 (s,1H) 7.94 (s,1H) 7.48 (s,1H) 7.38 (s,2H) 6,80 (d,1 H) 4,02 (m,1 H) 3,77 (m,1 H) 2,54 (s,3 H) 1,18 (d,3H) 1,08 (d,3H)
MS	458 (ES)	444 (ES)	465 (ES)

Beispiel 5**Herstellung von 4-(5-Cyano-4-cyclohexylamino-pyrimidin-2-ylamino)-2,6-dimethyl-benzolsulfonamid**

5

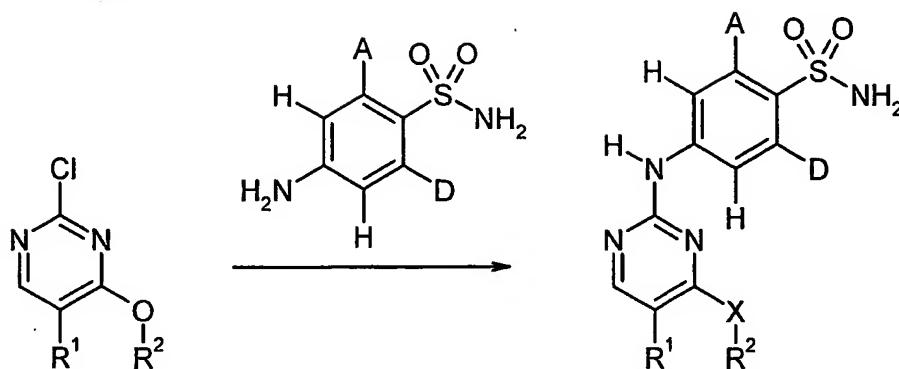
375 mg des Rohproduktes 2-Chlor-4-cyclohexylamino-pyrimidin-5-carbonitril werden mit 200 mg (1,00 mmol) 4-Amino-2,6-dimethyl-benzolsulfonamid und 0,3 ml einer 4 N Lösung von Chlorwasserstoff in Dioxan sowie 0,2 ml Acetonitril 24 Stunden bei 60 °C gerührt. Nach dem Erkalten wird der Ansatz mit gesättigter NaHCO₃-Lösung versetzt und gegen Essigester extrahiert (3x). Die vereinten organischen Phasen werden getrocknet (Na₂SO₄), filtriert und eingeeengt. Der erhaltene Rückstand wird chromatographisch (DCM / EtOH 95:5) gereinigt. Man erhält 144 mg (0,36 mmol; entsprechend 30% der Theorie) des Produktes.

15

¹H-NMR (DMSO-D₆): 9.85 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 7.50 (m, 3H), 7.09 (s, 2H), 3.99 (m, 1H), 2.55 (s, 6H), 1.75 (m, 3H), 1.62 (m, 1H), 1.25 (m, 6H).

MS: 401 (ES).

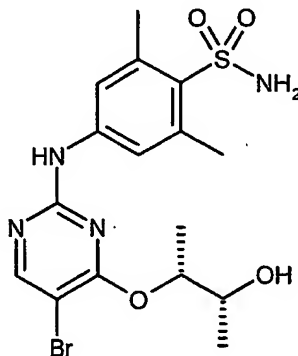
II. Verfahrensvariante 2



Die Substituenten R^1 , R^2 , A und D haben die in der allgemeinen Formel (I) angegebene Bedeutung.

5 Beispiel 6

Herstellung von 4-[5-Brom-4-((1*R*,2*R*)-2-hydroxy-1-methyl-propoxy)-pyrimidin-2-ylamino]-2,6-dimethyl-benzolsulfonamid



10

202 mg (1,01 mmol) 4-Amino-2,6-dimethyl-benzolsulfonamid in 3 ml Acetonitril werden mit 0,28 ml einer 4 molaren Lösung von Chlorwasserstoff in Dioxan versetzt. Es wird eine Lösung von 310 mg (1,10 mmol) (2*R*,3*R*)-3-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-yloxy)-butan-2-ol in 1,5 ml Acetonitril zugegeben und der

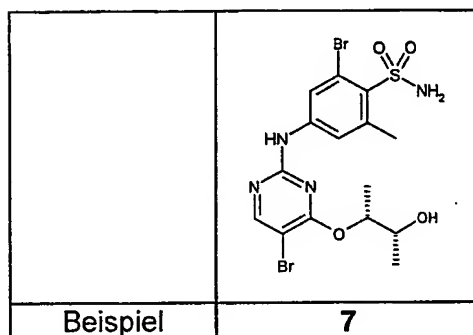
15 Ansatz wird 75 h unter Rückfluss gerührt. Nach dem Erkalten wird der ausgefallene Feststoff abgesaugt und anschließend chromatographisch (DCM / EtOH 95 :5) gereinigt. Das erhaltene Rohprodukt wird abschließend aus Methanol umkristallisiert. Man erhält 39 mg (0,09 mmol; entsprechend 9% der Theorie) des Produktes.

20

¹H-NMR (DMSO-D₆): 9.91 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.51 (s, 2H), 7.10 (s, 2H), 5.20 (m, 1H), 4.90 (d, 1H), 3.82 (m, 1H), 2.60 (s, 6H), 1.30 (d, 3H), 1.15 (d, 3H).

MS: 445 (ES).

- 5 In analoger Verfahrensweise zu der oben beschriebenen Verfahrensvariante wird auch die nachfolgende Verbindung hergestellt:

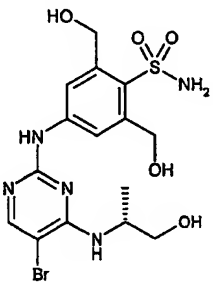
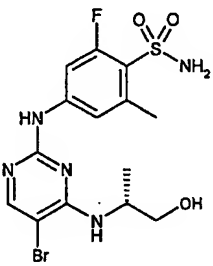
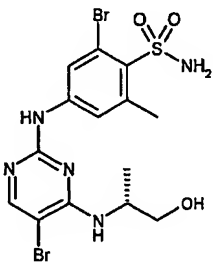


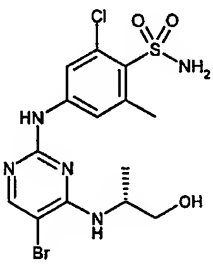
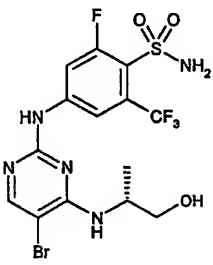
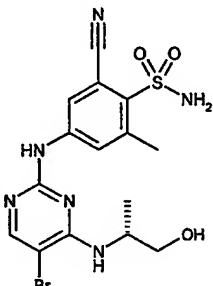
¹H-NMR (DMSO-D₆): 10.05 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.33 (s, 2H), 5.15 (m, 1H), 4.88 (d, 1H), 3.79 (m, 1H), 2.55 (s, 3H), 1.28 (d, 3H), 1.10 (d, 3H)

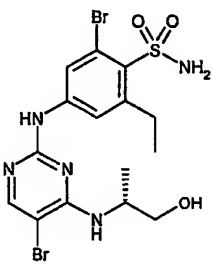
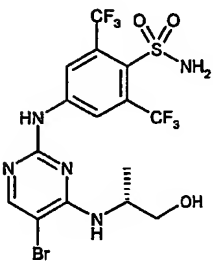
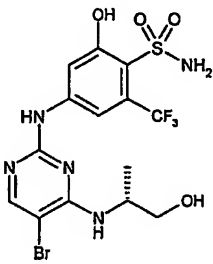
MS: 510 (ES)

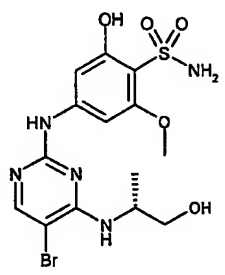
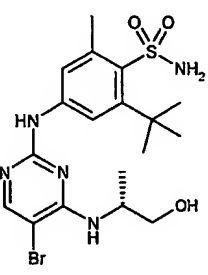
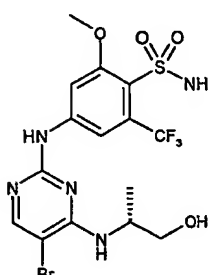
- Die nachfolgenden Beispiele können analog der vorbeschriebenen
- 15 Verfahrensvarianten einschließlich dem Fachmann naheliegender Verfahren erhalten werden:

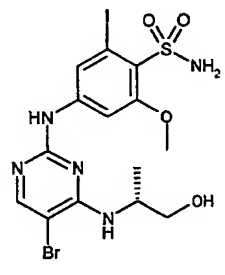
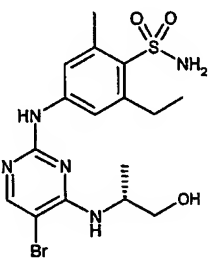
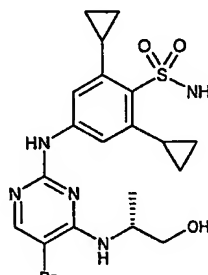
Beispiel	8	9	10
Literatur	Grella, J. Med. Chem. 2000, 4726	Sheperd, J. Org. Chem. 1947, 257	Hodgson, J. Chem. Soc. 1926, 2078

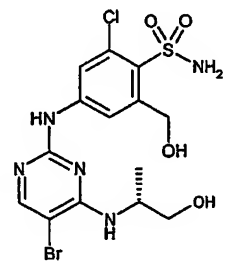
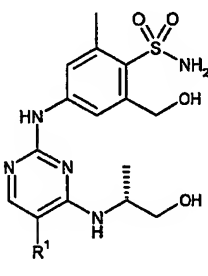
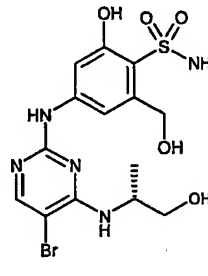
			
Beispiel	11	12	13
Literatur	Behrens, Synthesis 1992, 1235	Hirst, J. Chem. Soc. Perk. Trans. 2 1980, 829	Liedholm, Acta Chem. Scand. 1993, 701

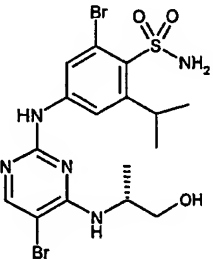
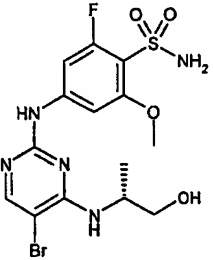
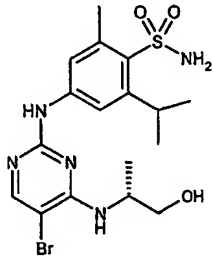
			
Beispiel	14	15	16
Literatur	Moore, J. Med. Chem. 1991, 1243	Mishani, J. Labelled Compd. Radiopharm. 1999, S27	Green, J. Med. Chem. 1999, 3572

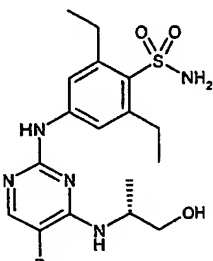
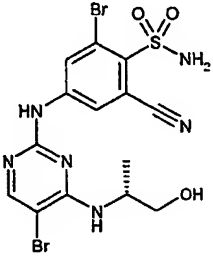
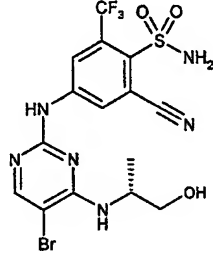
			
Beispiel	17	18	19
Literatur	Uyeo, Nippon Kagaku Kaishi 1942, 1452	Drake, J. Am. Chem. Soc. 1946, 1602	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284

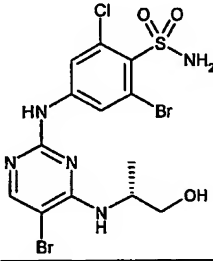
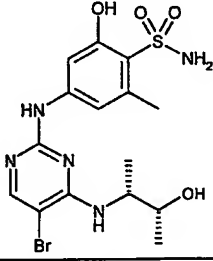
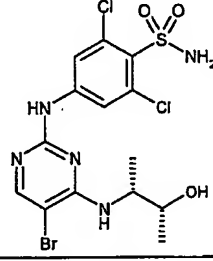
			
Beispiel	20	21	22
Literatur	Haworth, J. Chem. Soc. 1923, 2989	Dubin, Zh. Obshch. Khim. 1951, 662	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284

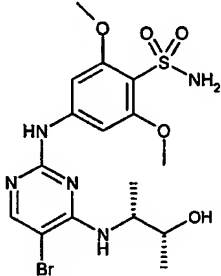
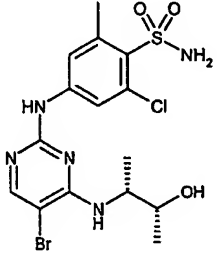
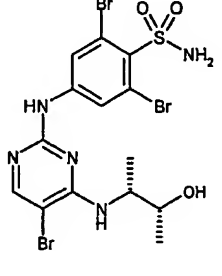
			
Beispiel	23	24	25
Literatur	Reich, J. Med. Chem. 2000, 1670	Morgan, J. Chem. Soc. 1934, 418	Kurtz, Chem. Ber. 1973, 525

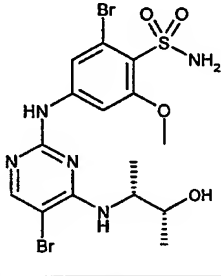
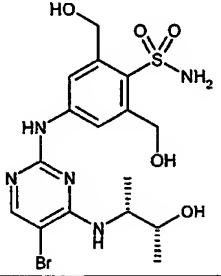
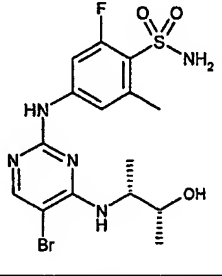
			
Beispiel	26	27	28
Literatur	Meindl, J. Med. Chem. 1984, 1111	Behrens, Synthesis 1992, 1235	Rickards, Aust. J. Chem. 1987, 1011

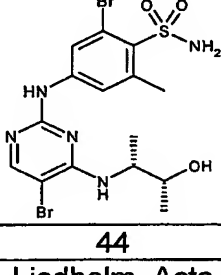
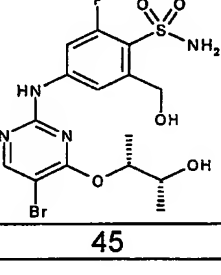
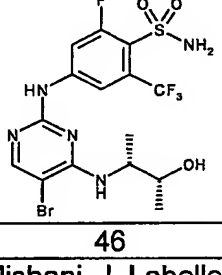
			
Beispiel	29	30	31
Literatur	Cosmo, Aust. J. Chem. 1987, 1107	Merck US 3671636, 1972	Kovacic, Tetrahedron 1967, 3965

			
Beispiel	32	33	34
Literatur	Uyeo, Yakugaku Zasshi, 1965, 314	Merck De 2300447, 1973	Merck De 2300447, 1973

			
Beispiel	35	36	37
Literatur	Koerner, Atti Accad. Naz. Lincei Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. Rend. 1913, 823	Tamayo, Tet. Lett. 1993, 4713	Huba, J. Org. Chem. 1959, 595

			
Beispiel	38	39	40
Literatur	Browne, J. Chem. Soc. 1931, 3285	Grella, J. Med. Chem. 2000, 4726	Sheperd, J. Org. Chem. 1947, 257

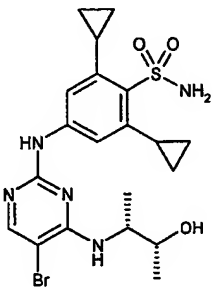
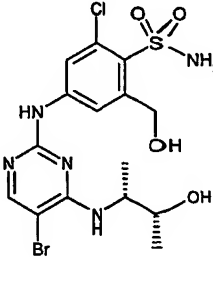
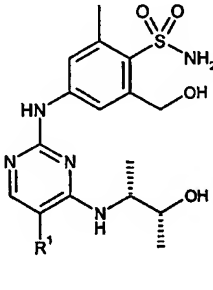
			
Beispiel	41	42	43
Literatur	Hodgson, J. Chem. Soc. 1926, 2078	Behrens, Synthesis 1992, 1235	Hirst, J. Chem. Soc. Perk. Trans. 2 1980, 829

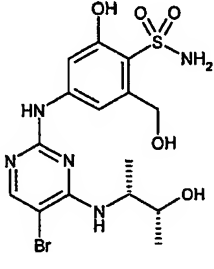
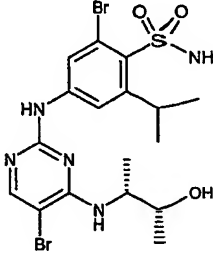
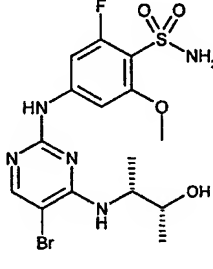
			
Beispiel	44	45	46
Literatur	Liedholm, Acta Chem. Scand. 1993, 701		Mishani, J. Labelled Compd. Radiopharm. 1999, S27

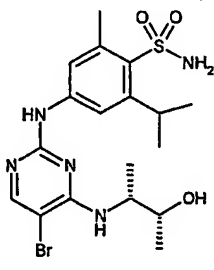
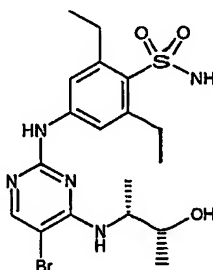
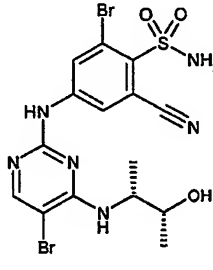
Beispiel	47	48	49
Literatur	Green, J. Med. Chem. 1999, 3572	Uyeo, Nippon Kagaku Kaishi 1942, 1452	Drake, J. Am. Chem. Soc. 1946, 1602

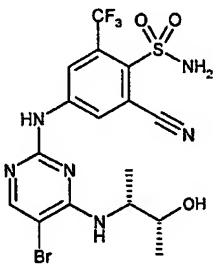
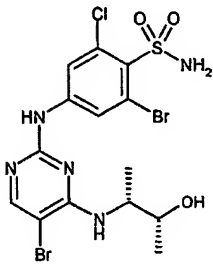
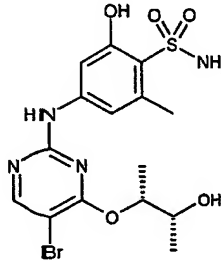
Beispiel	50	51	52
Literatur	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284	Haworth, J. Chem. Soc. 1923, 2989	Dubin, Zh. Obshch. Khim. 1951, 662

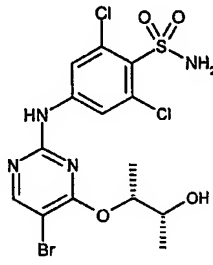
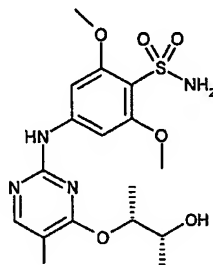
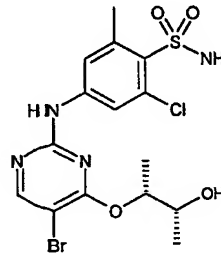
Beispiel	53	54	55
Literatur	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284	Reich, J. Med. Chem. 2000, 1670	Morgan, J. Chem. Soc. 1934, 418

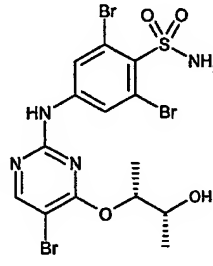
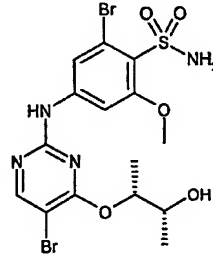
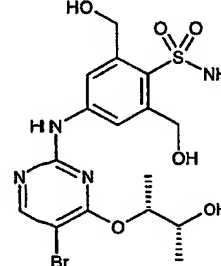
			
Beispiel	56	57	58
Literatur	Kurtz, Chem. Ber. 1973, 525	Meindl, J. Med. Chem. 1984, 1111	Behrens, Synthesis, 1992, 1235

			
Beispiel	59	60	61
Literatur	Rickards, Aust. J. Chem. 1987, 1011	Cosmo, Aust. J. Chem. 1987, 1107	Merck US 3671636, 1972

			
Beispiel	62	63	64
Literatur	Kovacic, Tetrahedron 1967, 3965	Uyeo, Yakugaku Zasshi, 1965, 314	Merck De 2300447, 1973

			
Beispiel	65	66	67
Literatur	Merck De 2300447, 1973	Koerner, Atti Accad. Naz. Lincei Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. Rend. 1913, 823	Tamayo, Tet. Lett. 1993, 4713

			
Beispiel	68	69	70
Literatur	Huba, J. Org. Chem. 1959, 595	Browne, J. Chem. Soc. 1931, 3285	Grella, J. Med. Chem. 2000, 4726

			
Beispiel	71	72	73
Literatur	Sheperd, J. Org. Chem. 1947, 257	Hodgson, J. Chem. Soc. 1926, 2078	Behrens, Synthesis 1992, 1235

Beispiel	74	75	76
Literatur	Hirst, J. Chem. Soc. Perk. Trans. 2 1980, 829		Moore, J. Med. Chem. 1991, 1243

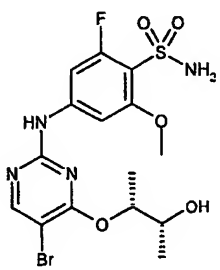
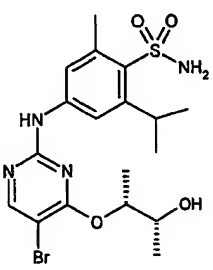
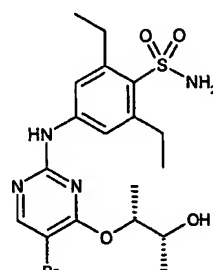
Beispiel	77	78	79
Literatur	Mishani, J. Labelled Compd. Radiopharm. 1999, S27	Green, J. Med. Chem. 1999, 3572	Uyeo, Nippon Kagaku Kaishi 1942, 1452

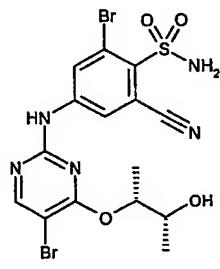
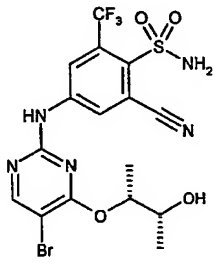
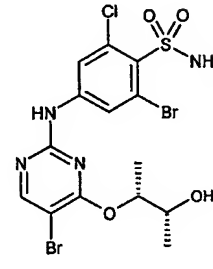
Beispiel	80	81	82
Literatur	Drake, J. Am. Chem. Soc. 1946, 1602	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284	Haworth, J. Chem. Soc. 1923, 2989

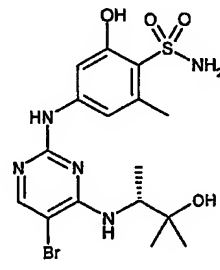
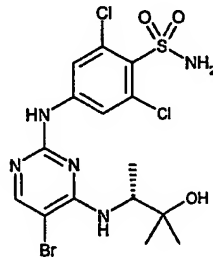
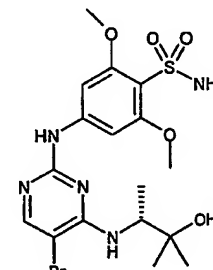
Beispiel	83	84	85
Literatur	Dubinín, Zh. Obshch. Khim. 1951, 662	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284	Reich, J. Med. Chem. 2000, 1670

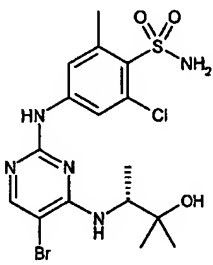
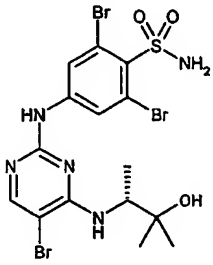
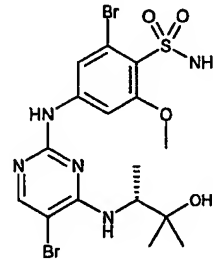
Beispiel	86	87	88
Literatur	Morgan, J. Chem. Soc. 1934, 418	Kurtz, Chem. Ber. 1973, 525	Meindl, J. Med. Chem. 1984, 1111

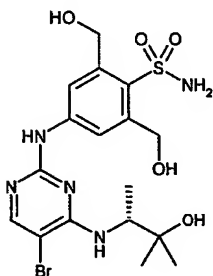
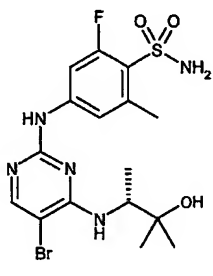
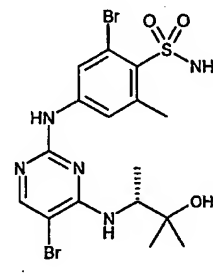
Beispiel	89	90	91
Literatur	Behrens, Synthesis 1992, 1235	Rickards, Aust. J. Chem. 1987, 1011	Cosmo, Aust. J. Chem. 1987, 1107

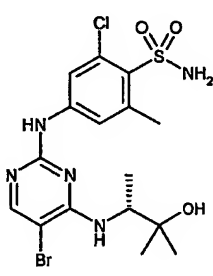
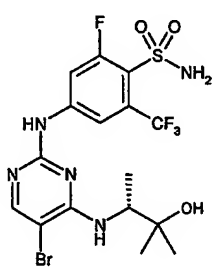
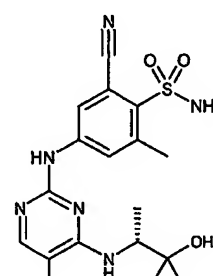
			
Beispiel	92	93	94
Literatur	Merck US 3671636, 1972	Kovacic, Tetrahedron 1967, 3965	Uyeo, Yakugaku Zasshi, 1965, 314

			
Beispiel	95	96	97
Literatur	Merck De 2300447, 1973	Merck De 2300447, 1973	Koerner, Atti Accad. Naz. Lincei Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. Rend. 1913, 823

			
Beispiel	98	99	100
Literatur	Tamayo, Tet. Lett. 1993, 4713	Huba, J. Org. Chem. 1959, 595	Browne, J. Chem. Soc. 1931, 3285

			
Beispiel	101	102	103
Literatur	Grella, J. Med. Chem. 2000, 4726	Sheperd, J. Org. Chem. 1947, 257	Hodgson, J. Chem. Soc. 1926, 2078

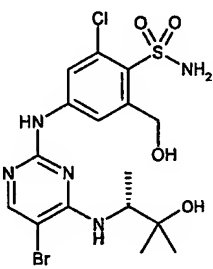
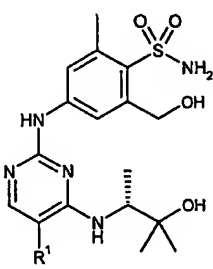
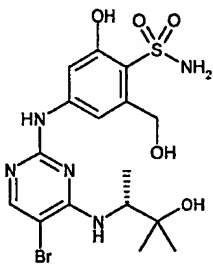
			
Beispiel	104	105	106
Literatur	Behrens, Synthesis 1992, 1235	Hirst, J. Chem. Soc. Perk. Trans. 2 1980, 829	Liedholm, Acta Chem. Scand. 1993, 701

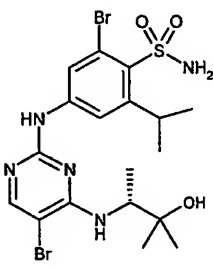
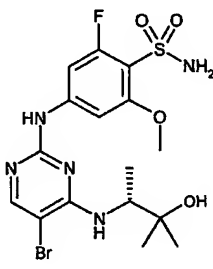
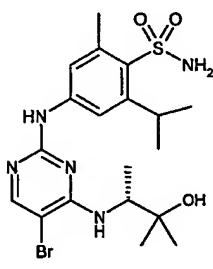
			
Beispiel	107	108	109
Literatur	Moore, J. Med. Chem. 1991, 1243	Mishani, J. Labelled Compd. Radiopharm. 1999, S27	Green, J. Med. Chem. 1999, 3572

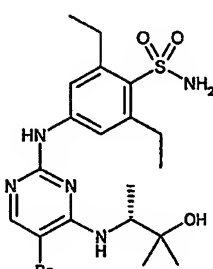
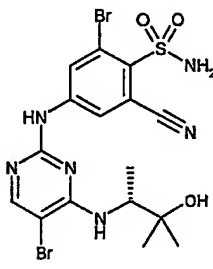
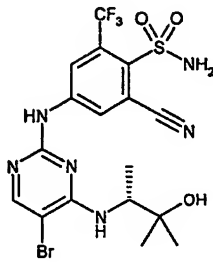
Beispiel	110	111	112
Literatur	Uyeo, Nippon Kagaku Kaishi 1942, 1452	Drake, J. Am. Chem. Soc. 1946, 1602	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284

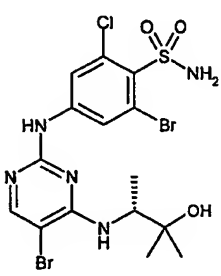
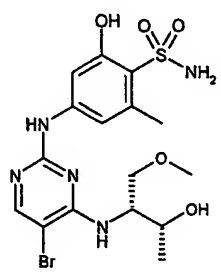
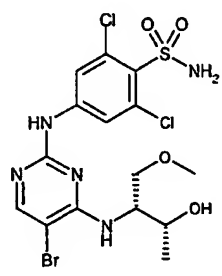
Beispiel	113	114	115
Literatur	Haworth, J. Chem. Soc. 1923, 2989	Dubin, Zh. Obshch. Khim. 1951, 662	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284

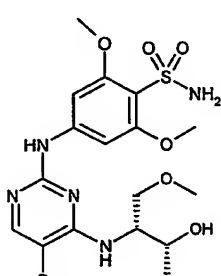
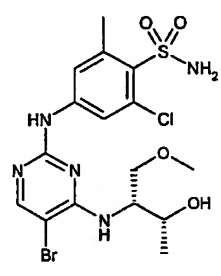
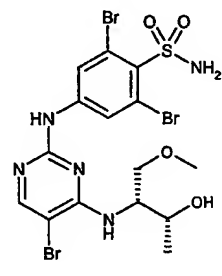
Beispiel	116	117	118
Literatur	Reich, J. Med. Chem. 2000, 1670	Morgan, J. Chem. Soc. 1934, 418	Kurtz, Chem. Ber. 1973, 525

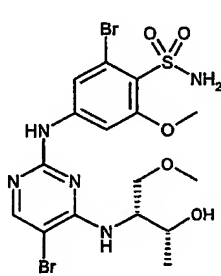
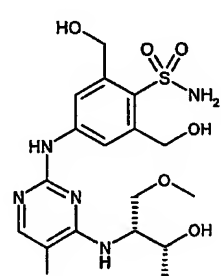
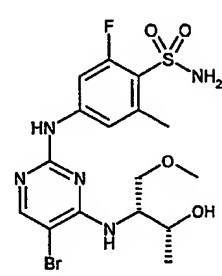
			
Beispiel	119	120	121
Literatur	Meindl, J. Med. Chem. 1984, 1111	Behrens, Synthesis 1992, 1235	Rickards, Aust. J. Chem. 1987, 1011

			
Beispiel	122	123	124
Literatur	Cosmo, Aust. J. Chem. 1987, 1107	Merck US 3671636, 1972	Kovacic, Tetrahedron 1967, 3965

			
Beispiel	125	126	127
Literatur	Uyeo, Yakugaku Zasshi, 1965, 314	Merck De 2300447, 1973	Merck De 2300447, 1973

			
Beispiel	128	129	130
Literatur	Koerner, Atti Accad. Naz. Lincei Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. Rend. 1913, 823	Tamayo, Tet. Lett. 1993, 4713	Huba, J. Org. Chem. 1959, 595

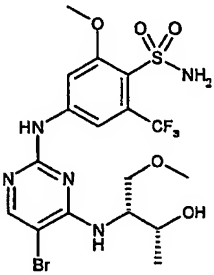
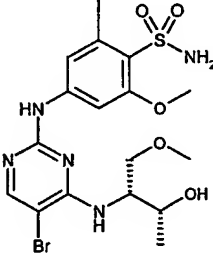
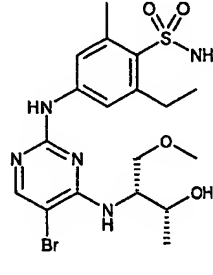
			
Beispiel	131	132	133
Literatur	Browne, J. Chem. Soc. 1931, 3285	Grella, J. Med. Chem. 2000, 4726	Sheperd, J. Org. Chem. 1947, 257

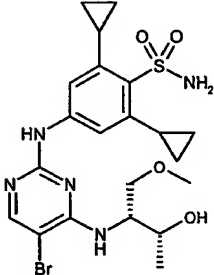
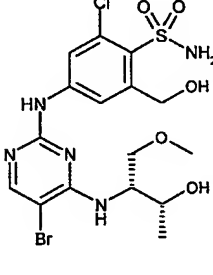
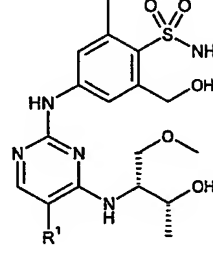
			
Beispiel	134	135	136
Literatur	Hodgson, J. Chem. Soc. 1926, 2078	Behrens, Synthesis 1992, 1235	Hirst, J. Chem. Soc. Perk. Trans. 2 1980, 829

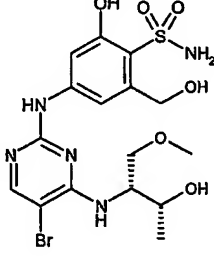
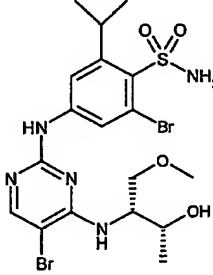
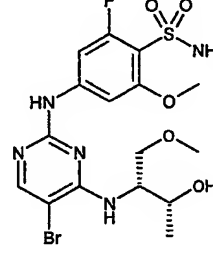
Beispiel	137	138	139
Literatur	Liedholm, Acta Chem. Scand. 1993, 701	Moore, J. Med. Chem. 1991, 1243	Mishani, J. Labelled Compd. Radiopharm. 1999, S27

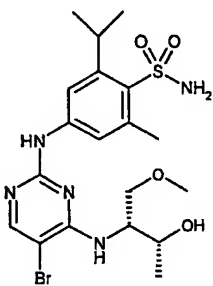
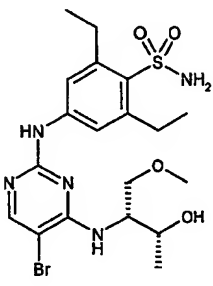
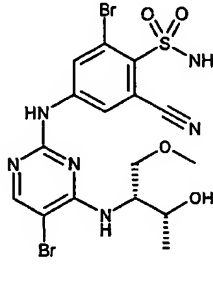
Beispiel	140	141	142
Literatur	Green, J. Med. Chem. 1999, 3572	Uyeo, Nippon Kagaku Kaishi 1942, 1452	Drake, J. Am. Chem. Soc. 1946, 1602

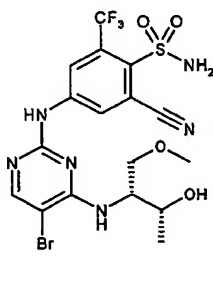
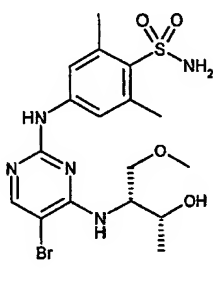
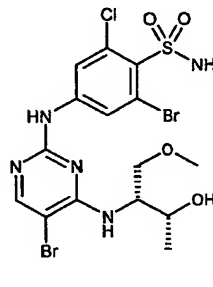
Beispiel	143	144	145
Literatur	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284	Haworth, J. Chem. Soc. 1923, 2989	Dubinin, Zh. Obshch. Khim. 1951, 662

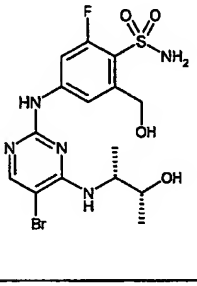
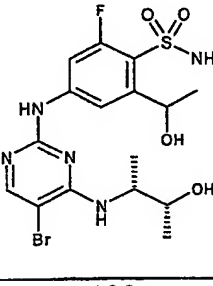
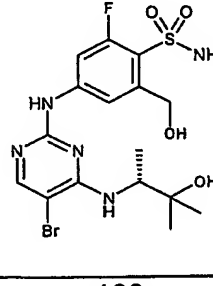
			
Beispiel	146	147	148
Literatur	Hauptschein, J. Am. Chem. Soc. 1955, 2284	Reich, J. Med. Chem. 2000, 1670	Morgan, J. Chem. Soc. 1934, 418

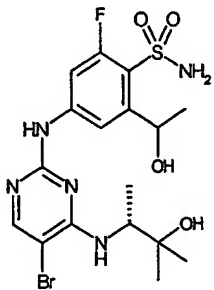
			
Beispiel	149	150	151
Literatur	Kurtz, Chem. Ber. 1973, 525	Meindl, J. Med. Chem. 1984, 1111	Behrens, Synthesis 1992, 1235

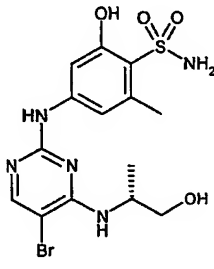
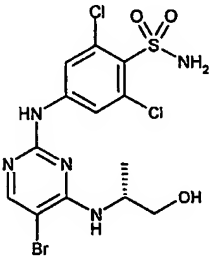
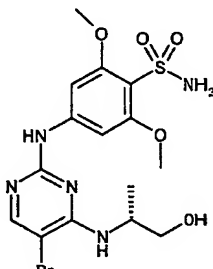
			
Beispiel	152	153	154
Literatur	Rickards, Aust. J. Chem. 1987, 1011	Cosmo, Aust. J. Chem. 1987, 1107	Merck US 3671636, 1972

			
Beispiel	155	156	157
Literatur	Kovacic, Tetrahedron 1967, 3965	Uyeo, Yakugaku Zasshi, 1965, 314	Merck De 2300447, 1973

			
Beispiel	158	159	160
Literatur	Merck De 2300447, 1973		Koerner, Atti Accad. Naz. Lincei Cl. Sci. Fis. Mat. Nat. Rend. 1913, 823

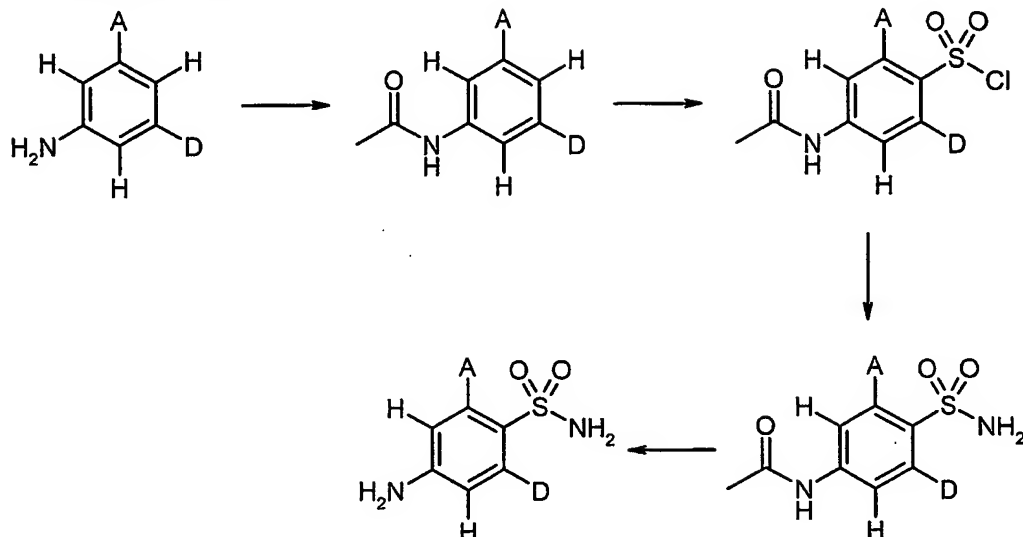
			
Beispiel	161	162	163
Literatur			

			
Beispiel	164		
Literatur			

			
Beispiel	165	166	167
Literatur	Tamayo, Tet. Lett. 1993, 4713	Huba, J. Org. Chem. 1959, 595	Browne, J. Chem. Soc. 1931, 3285

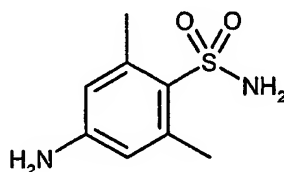
Herstellung der Zwischenprodukte

1. Herstellung der Anilinderivate



- 5 Die Substituenten A und D haben die in der allgemeinen Formel (I) angegebene Bedeutung.

1.1 Herstellung von 4-Amino-2,6-dimethyl-benzolsulfonamid



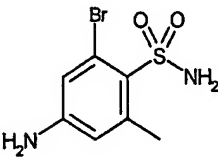
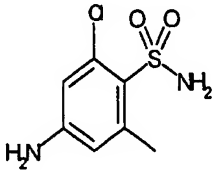
10

- 7,53 g (31,1 mmol) N-(3,5-Dimethyl-4-sulfamoyl-phenyl)-acetamid werden in 100 ml einer 2N NaOH Lösung 2 Stunden unter Rückfluss gerührt. Der Ansatz wird nach dem Abkühlen gegen Essigester extrahiert (3x). Die vereinten
 15 organischen Phasen werden über einen Whatman Filter filtriert und eingeeengt. Man erhält 1,17 g (5,9 mmol; entsprechend 19% der Theorie) des Produktes.

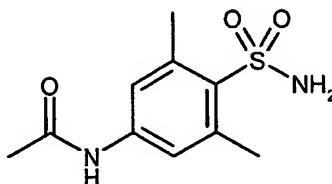
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6): 6.81 (s,2H), 6.25 (s,2H), 5.55 (br,2H), 2.40 (s,6H).

20

Analog werden folgende Strukturen hergestellt:

			
MS	265(Cl)	MS	221 (Cl)

5 1.2 Herstellung von N-(3,5-Dimethyl-4-sulfamoyl-phenyl)-acetamid

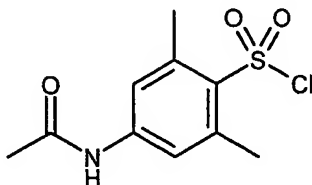


Eine Lösung von 8,54 g (32,6 mmol) 4-Acetylamino-2,6-dimethyl-
 10 benzolsulfonylchlorid in 100 ml DCM wird mit Ammoniak Gas gesättigt.
 Anschließend wird der Ansatz weitere 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.
 Der gebildete Niederschlag wird abgesaugt und aus heißem Methanol
 umkristallisiert. Man erhält 3,29 g (13,6 mmol, entsprechend 42% der Theorie)
 des Produktes.

15

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6): 10.05 (s,1H), 7.37 (s,2H), 7.15 (s,2H), 2.55 (s,6H), 2.03 (s,3H).

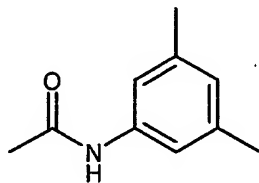
1.3 Herstellung von 4-Acetylamino-2,6-dimethyl-benzolsulfonylchlorid



- 5 21,0 g (129 mmol) N-(3,5-Dimethyl-phenyl)-acetamid werden vorsichtig zu 35 ml Chlorsulfonsäure gegeben und der Ansatz anschließend 3 Stunden bei 90°C gerührt. Nach dem Erkalten wird der Ansatz langsam auf ein Gemisch aus Essigester / Hexan (1:1) und Eis gegeben. Die organische Phase wird abgetrennt, über einen Whatman Filter filtriert und eingeengt. Man erhält 15,1 g
10 (58 mmol, entsprechend 45% der Theorie) des Rohproduktes, das ohne weitere Aufreinigung in den folgenden Versuchen eingesetzt wird.

1.4 Herstellung von N-(3,5-Dimethyl-phenyl)-acetamid

15

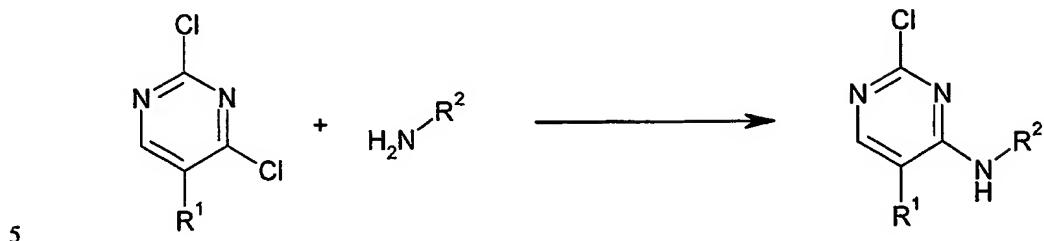


- 20 20 ml (160 mmol) 3,5-Dimethylanilin werden unter Rühren langsam mit 30 ml (317 mmol) Acetanhydrid versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 2 Stunden gerührt, anschließend wird der gebildete Feststoff abgesaugt und mit Diisopropylether gewaschen. Nach dem Trocknen erhält man 21,1 g (129 mmol, entsprechend 81% der Theorie) des Produktes.

- 25 ¹H-NMR (DMSO-D₆): 9.75 (s,1H), 7.18 (s,2H), 6.65 (s,1H), 2.21 (s,6H), 2.02 (s,3H).

2. Herstellung der 2-Chlor-Pyrimidin Derivate

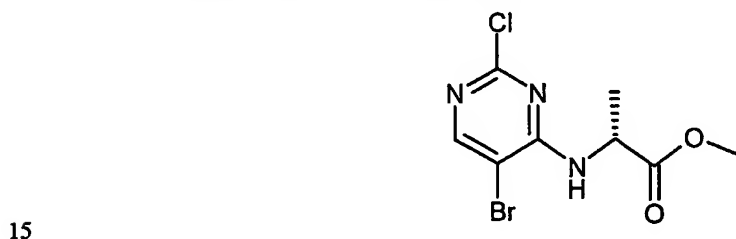
2.1 Herstellung der 4-N Derivate



Die Substituenten R1 und R2 haben die in der allgemeinen Formel (I) angegebene Bedeutung.

10 2.1.1. Herstellung von (*R*)-3-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-2-methyl-butan-2-ol

2.1.1.1 Herstellung von (*R*)-2-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-propionsäure-methyl-ester

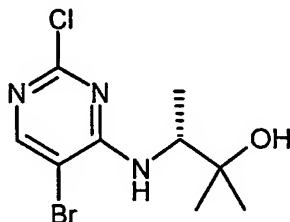


22,8 g (100mmol) 5-Brom-2,4-dichlor-pyrimidin und 14,0 g (100 mmol) D-Alaninsäuremethylester Hydrochlorid werden in 300 ml THF und 75 ml DMF gelöst. Der eisgekühlte Ansatz wird mit 33,5 ml (240 mmol) Triethylamin
 20 versetzt und anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 48 Stunden wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der verbleibende Rückstand chromatographisch (Hexan / Essigester: 4:1 – 2:1) gereinigt. Man erhält 25,5 g (86,1 mmol, entsprechend 86% der Theorie) des Produktes.

25

¹H-NMR (CDCl₃): 8.2 (s, 1H), 6.1 (d, 1H), 4.8 (m, 1H), 3.8 (s, 3H), 1.6 (d, 3H).

2.1.1.2 Herstellung von (*R*)-3-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-2-methylbutan-2-ol



5 Eine eisgekühlte Lösung von 2,95 g (10,0 mmol) (*R*)-2-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-propionsäure-methyl-ester in 150 ml THF wird tropfenweise mit 30 ml (90 mmol) einer 3 molaren Lösung von

10 Methylmagnesiumbromid in Diethylether versetzt. Nach 2,5 Stunden bei Raumtemperatur wird der Ansatz mit 30 ml gesättigter Ammoniumchlorid Lösung versetzt. Man verdünnt mit Wasser und extrahiert gegen Essigester (3x). Die vereinten organischen Phasen werden getrocknet (Na₂SO₄), filtriert und eingeeengt. Der verbleibende Rückstand wird chromatographisch (Hexan / Essigester: 4:1 – 1:1) gereinigt. Man erhält 2,81 g (9,5 mmol, entsprechend 95%

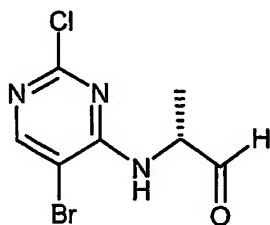
15 der Theorie) des Produktes.

¹H-NMR (CDCl₃): 8.1 (s, 1H), 5.9 (d, 1H), 4.2 (m, 1H), 1.8 (br, 1H), 1.2 (m, 9H).

2.1.2 Herstellung von (2*R*,3*R*)-3-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-butan-2-ol

20

2.1.2.1 Herstellung von (*R*)-2-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-propionaldehyd



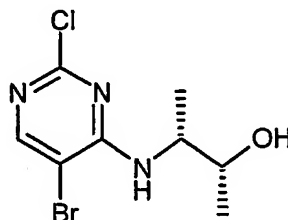
Eine Lösung von 40,0g (135,8 mmol) (*R*)-2-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-propionsäure-methyl-ester in 800 ml Toluol wird bei -78°C mit 310 ml einer 1,2 molaren Lösung von Diisobutylaluminiumhydrid versetzt. Nach 30 Minuten wird vorsichtig mit Methanol gequencht. Der Ansatz wird auf

5 Raumtemperatur erwärmt und mit 1000 ml tert-Butyl-methylether verdünnt. Man wäscht sukzessive mit 1 N HCl (3x 100 ml), gesättigter Natriumhydrogencarbonat Lösung (3x) und gesättigter NaCl Lösung (3x). Die organische Phase wird getrocknet (MgSO_4), filtriert und eingeeengt. Der verbleibende Rückstand wird chromatographisch (Hexan / Essigester: 4:1 – 1:1)

10 gereinigt. Man erhält 22,5 g (83,9 mmol, entsprechend 62% der Theorie) des Produktes.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 9.6 (s, 1H), 8.2 (s, 1H), 6.3 (d, 1H), 4.8 (m, 1H), 1.5 (d, 3H).

15 2.1.2.2 Herstellung von (2*R*,3*R*)-3-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-butan-2-ol



20 32,7 g (159 mmol) Kupfer(I)bromid Dimethylsulfid Komplex werden unter Stickstoffatmosphäre in 1000 ml Diethylether vorgelegt und auf -78°C gekühlt. Über einen Zeitraum von ca. 25 Minuten werden 200 ml einer 1,6 molaren Lösung von Methyllithium in Diethylether zugetropft und anschließend das Kühlbad entfernt. Der Ansatz wird 40 Minuten gerührt, die Temperatur steigt auf

25 -35°C . Es wird auf -55°C abgekühlt und 18,9 g (71,5 mmol) (*R*)-2-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-propionaldehyd über einen Zeitraum von 20 Minuten zugegeben. Es wird 6 Stunden bei -55°C gerührt, anschließend wird das Kühlbad erneut mit Trockeneis gefüllt, mit Alufolie abgedeckt und der Ansatz über Nacht gerührt. Es werden 200 ml einer gesättigten Ammoniumchlorid

30 Lösung zugetropft und der Ansatz auf Raumtemperatur erwärmt. Es wird mit

500 ml Diethylether verdünnt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden mit gesättigter Ammoniumchlorid Lösung und gesättigter NaCl Lösung gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4), filtriert und eingeeengt. Der verbleibende
5 Rückstand wird chromatographisch (Hexan / Essigester: 4:1 – 1:1) gereinigt. Man erhält 8,4 g (30,0 mmol, entsprechend 42 % der Theorie) des Produktes.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 8.1 (s, 1H), 5.8 (d, 1H), 4.2 (m, 1H), 3.9 (m, 1H), 2.0 (d, 1H), 1.3 (d, 3H), 1.2 (d, 3H).

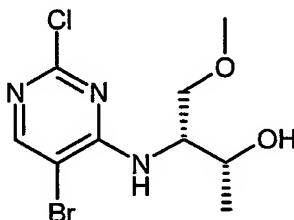
10

HPLC-Analytik:

Säule: Chiralpak AD-H 5μ , Länge x ID: 150 x 4,6 mm, Eluenten: A= Hexan, C = Ethanol, Fluß: 1,0 ml / min, Gradient: isokratisch 5%C, Detektor: UV 254nm, Temperatur: 25 °C, RT in min: 6,04

15

2.1.3 Herstellung von (2R,3R)-3-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-ylamino)-4-methoxy-butan-2-ol



20

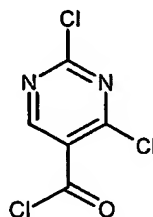
311 mg (2,6 mmol) (2R,3R)-3-Amino-4-methoxy-butan-2-ol Hydrochlorid (Herstellung nach A.I. Meyers, D. Hoyer, *Tet. Lett.* **1985**, 26, 4687) in 2 ml Acetonitril werden mit 0.28 ml Triethylamin versetzt und geschüttelt. Man filtriert und wäscht den Filterkuchen mit 2 ml Acetonitril. Das Filtrat wird zu einer
25 Lösung von 455 mg (2,0 mmol) 5-Brom-2,4-dichlor-pyrimidin in 26 ml Acetonitril bei -30°C getropft. Durch Entfernen des Kühlbades wird langsam unter Rühren auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 16 Stunden wird das Lösungsmittel am

Rotationsverdampfer entfernt und der verbleibende Rückstand chromatographisch (Hexan / Essigester: 4:1 – 1:1) gereinigt. Man erhält 509 mg (1,6 mmol, entsprechend 80% der Theorie) des Produktes.

- 5 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 8.1 (s, 1H), 6.3 (d, 1H), 4.3 (m, 1H), 4.2 (m, 1H), 3.8 (d, 2H), 3.4 (s, 3H), 3.1 (d, 1H), 1.2 (d, 3H).

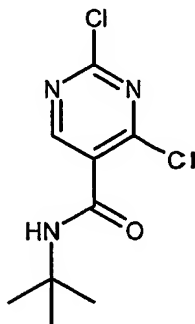
2.1.4. 2-Chlor-4-cyclohexylamino-pyrimidin-5-carbonitril

- 10 2.1.4.1 Herstellung von 2,4-Dichlor-pyrimidin-5-carbonylchlorid



- Ein Ansatz aus 30,0 g (192,2 mmol) 2,4-Dichloro-pyrimidine-5-carboxylsäure,
15 44,8 ml (480,5 mmol) Phosphoroxychlorid und 132,1 g (634,2 mmol)
Phosphorpentachlorid wird 6 Stunden unter Argon bei 115 °C gerührt.
Anschließend wird der Ansatz über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Es wird
filtriert und der Filterkuchen mit Toluol nachgewaschen. Das Filtrat wird zur
Trockene eingeeengt und der Rückstand durch Vakuumdestillation (80-90°C /
20 0,15 mbar) gereinigt. Man erhält 26,0 g (123,0 mmol, entsprechend 64% der
Theorie) des Produktes.

2.1.4.2 Herstellung von 2,4-Dichlor-pyrimidin-5- carboxylsäure tert-butylamid

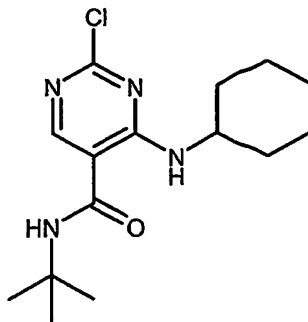


- 5 Eine Lösung von 26,0g (123,0 mmol) 2,4-Dichlor-pyrimidin-5-carbonylchlorid in 163 ml THF (getrocknet) wird bei -3°C bis -7°C unter Argon tropfenweise über einen Zeitraum von 70 Minuten mit einer Lösung von 13,73 ml (129,5 mmol) tert.-Butylamin und 17,95 ml (129,5 mmol) Triethylamin in 163 ml THF (getrocknet) versetzt. Der Ansatz wird 4 Stunden gerührt und dabei langsam auf
- 10 Raumtemperatur erwärmt. Der gebildete Niederschlag wird abgetrennt und das Filtrat zur Trockene eingengt. Man erhält 32,6 g des Rohproduktes, das ohne weitere Reinigung eingesetzt wird.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6): 8,80 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 1.32 (s, 9H).

15

2.1.4.3 Herstellung von 2-Chlor-4-cyclohexylamino-pyrimidin-5-carboxylsäure tert-butylamid

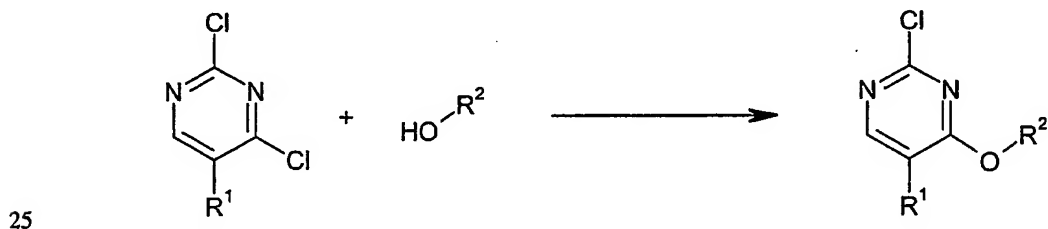


- Eine wassergekühlte Lösung von 2,00 g (8,06 mmol) 2,4-Dichlor-pyrimidin-5-carboxylsäure tert-butylamid in 11,5 ml THF wird tropfenweise mit einer Lösung von 0,92 ml (8,06 mmol) Cyclohexylamin und 1,12 ml (0,73 mmol) Triethylamin in 16,1 ml THF versetzt. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit verdünnter NaCl-Lösung versetzt. Man extrahiert mit Essigester (2x). Die vereinten organischen Phasen werden getrocknet (Na_2SO_4), filtriert und eingedunstet. Man erhält 2,28 g (7,34 mmol, entsprechend 91% der Theorie) des Produktes.
- $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): 8,88 (d, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 3,85 (m, 1H), 1,85 (m, 2H), 1,60 (m, 4H), 1,25 (m, 13H).

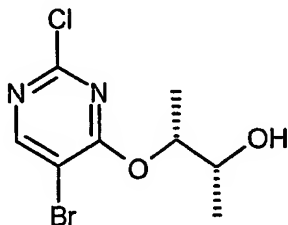
2.1.4.4 2-Chlor-4-cyclohexylamino-pyrimidin-5-carbonitril

- 500 mg (1,61 mmol) 2-Chlor-4-cyclohexylamino-pyrimidin-5-carboxylsäure tert-butylamid in 10 ml Thionylchlorid werden 30 h bei 80 °C gerührt. Nach dem Erkalten wird der Ansatz mehrfach unter Zugabe von Toluol zur Trockene eingedunstet. Der Rückstand wird einige Minuten mit einigen Millilitern Toluol / Wasser (1:1) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird erneut unter Zugabe von Toluol zur Trockene eingedunstet. Man erhält 500 mg des Rohproduktes.

2.2 Herstellung der 4-O Derivate



Die Substituenten R^1 und R^2 haben die in der allgemeinen Formel (I) angegebene Bedeutung.

2.2.1 Herstellung von (2*R*,3*R*)-3-(5-Brom-2-chlor-pyrimidin-4-yloxy)-butan-2-ol

Eine Lösung von 2,7 g (30,0 mmol) (2*R*,3*R*)-Butan-2,3-diol in 120 ml THF wird
5 unter Eisbadkühlung portionsweise mit 0,96 g (24,0 mmol) Natriumhydrid
versetzt und anschließend 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird
zu einer eisgekühlten Lösung von 4,46 g (20,0 mmol) 5-Brom-2,4-dichlor-
pyrimidin in 40 ml THF gegeben. Der Ansatz wird langsam unter Rühren auf
Raumtemperatur erwärmt. Nach 12 Stunden wird der Ansatz am
10 Rotationsverdampfer eingeeengt und der verbleibende Rückstand
chromatographisch (Hexan / Essigester: 4:1 – 1:1) gereinigt. Man erhält 3,18 g
(11,3 mmol, entsprechend 57% der Theorie).

¹H-NMR (CDCl₃): 8.4 (s,1H), 5.2 (m,1H), 3.9 (m,1H), 2.0 (br,1H), 1.4 (d,3H), 1.2
15 (d,3H).

Assay 1**CDK1/CycB Kinase Assay**

20 Rekombinante CDK1- und CycB-GST-Fusionsproteine, gereinigt aus
Bakulovirus-infizierten Insektenzellen (Sf9), wurden von ProKinase GmbH,
Freiburg, gekauft. Das als Kinase-Substrat verwendete Histon III-S ist über die Fa.
Sigma käuflich zu erwerben.
CDK1/CycB (200 ng/Messpunkt) wurde für 10 min bei 22°C in Anwesenheit
25 verschiedener Konzentrationen an Testsubstanzen (0 µM, sowie innerhalb des
Bereiches 0,01 - 100 µM) in Assaypuffer [50 mM Tris/HCl pH8,0, 10 mM MgCl₂,
0,1 mM Na ortho-Vanadat, 1,0 mM Dithiothreitol, 0,5 µM Adenosintrisphosphat
(ATP), 10 µg/Messpunkt Histon III-S, 0,2 µCi/Messpunkt ³³P-gamma ATP,

- 0,05% NP40, 1,25% Dimethylsulfoxid] inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von EDTA-Lösung (250 mM, pH8,0, 15 µl/Messpunkt) gestoppt. Von jedem Reaktionsansatz wurden 15 µl auf P30 Filterstreifen (Fa. Wallac) aufgetragen, und nicht-eingebautes ³³P-ATP wurde durch dreimaliges
- 5 Waschen der Filterstreifen für je 10 min in 0,5%iger Phosphorsäure entfernt. Nach dem Trocknen der Filterstreifen für 1 Stunde bei 70°C wurden die Filterstreifen mit Szintillator-Streifen (MeltiLex™ A, Fa. Wallac) bedeckt und für 1 Stunde bei 90°C eingebrannt. Die Menge an eingebautem ³³P (Substratphosphorylierung) wurde durch Szintillationsmessung in einem
- 10 Gamma-Strahlungsmessgerät (Wallac) bestimmt.

Assay 2

CDK2/CycE Kinase Assay

- 15 Rekombinante CDK2- und CycE-GST-Fusionsproteine, gereinigt aus Bakulovirus-infizierten Insektenzellen (Sf9), wurden von ProQinase GmbH, Freiburg, gekauft. Histon IIIS, das als Kinase-Substrat verwendet wurde, wurde bei der Fa. Sigma gekauft.
- CDK2/CycE (50 ng/Messpunkt) wurde für 10 min bei 22°C in Anwesenheit
- 20 verschiedener Konzentrationen an Testsubstanzen (0 µM, sowie innerhalb des Bereiches 0,01 - 100 µM) in Assaypuffer [50 mM Tris/HCl pH8,0, 10 mM MgCl₂, 0,1 mM Na ortho-Vanadat, 1,0 mM Dithiothreitol, 0,5 µM Adenosintrisphosphat (ATP), 10 µg/Messpunkt Histon IIIS, 0,2 µCi/Messpunkt ³³P-gamma ATP, 0,05% NP40, 1,25% Dimethylsulfoxid] inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von
- 25 EDTA-Lösung (250 mM, pH8,0, 15 µl/Messpunkt) gestoppt. Von jedem Reaktionsansatz wurden 15 µl auf P30 Filterstreifen (Fa. Wallac) aufgetragen, und nicht-eingebautes ³³P-ATP wurde durch dreimaliges Waschen der Filterstreifen für je 10 min in 0,5%iger Phosphorsäure entfernt. Nach dem Trocknen der Filterstreifen für 1 Stunde bei 70°C wurden die Filterstreifen mit
- 30 Szintillator-Streifen (MeltiLex™ A, Fa. Wallac) bedeckt und für 1 Stunde bei 90°C eingebrannt. Die Menge an eingebautem ³³P (Substratphosphorylierung) wurde durch Szintillationsmessung in einem Gamma-Strahlungsmessgerät (Wallac) bestimmt.

Assay 3

VEGF Rezeptor-2 Kinase Assay

- Rekombinante VEGF Rezeptortyrosinkinase-2 wurde als GST-Fusionsprotein
5 aus Bakulovirus-infizierten Insektenzellen (Sf9) gereinigt. Poly-(Glu4Tyr), das
als Kinase-Substrat verwendet wurde, wurde bei der Fa. Sigma gekauft.
VEGF Rezeptortyrosinkinase (90 ng/Messpunkt) wurde für 10 min bei 22°C in
Anwesenheit verschiedener Konzentrationen an Testsubstanzen (0 µM, sowie
innerhalb des Bereiches 0,001 - 30 µM) in 30 µl Assaypuffer [40 mM Tris/HCl
10 pH5,5, 10 mM MgCl₂, 1 mM MnCl₂, 3 µM Na ortho-Vanadat, 1,0 mM
Dithiothreitol, 8 µM Adenosintrisphosphat (ATP), 0,96 µg/Messpunkt poly-
(Glu4Tyr), 0,2 µCi/Messpunkt 33P-gamma ATP, 1.4% Dimethylsulfoxid]
inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von EDTA-Lösung (250 mM,
pH8,0, 15 µl/Messpunkt) gestoppt.
- 15 Von jedem Reaktionsansatz wurden 15 µl auf P30 Filterstreifen (Fa. Wallac)
aufgetragen, und nicht-eingebautes 33P-ATP wurde durch dreimaliges
Waschen der Filterstreifen für je 10 min in 0,5%iger Phosphorsäure entfernt.
Nach dem Trocknen der Filterstreifen für 1 Stunde bei 70°C wurden die
Filterstreifen mit Szintillator-Streifen (MeltiLex™ A, Fa. Wallac) bedeckt und für
20 1 Stunde bei 90°C eingebrannt. Die Menge an eingebautem 33P
(Substratphosphorylierung) wurde durch Szintillationsmessung in einem
gamma-Strahlungsmessgerät (Wallac) bestimmt. Die IC₅₀-Werte bestimmen
sich aus der Inhibitorkonzentration, die notwendig ist, um den Phosphateinbau
auf 50% des ungehemmten Einbaus nach Abzug des Leerwertes (EDTA-
25 gestoppte Reaktion) zu hemmen.

Assay 4**Proliferationsassay**

Kultivierte humane Tumorzellen (MCF7, hormonunabhängige menschliche
5 Mammakarzinomazellen, bezogen von ATCC HTB22; NCI-H460, menschliche
nicht kleinzellige Lungenkarzinomazellen, ATCC HTB-177; DU 145,
hormonunabhängige menschliche Prostatakarzinomzellen, ATCC HTB-81;
MaTu-MDR, hormonunabhängige, multiple Arzneimittel resistente menschliche
Mammakarzinomzellen, EPO-GmbH, Berlin) wurden in einer Dichte von ca.
10 3000-5000 Zellen/Messpunkt, je nach Wachstumsgeschwindigkeit der
jeweiligen Zellen, in einer 96-Loch Multititerplatte in 200 µl des entsprechenden
Wachstumsmediums ausplattiert. Nach 24 Stunden wurden die Zellen einer
Platte (Nullpunkt-Platte) mit Kristallviolett gefärbt (s.u.), während das Medium
der anderen Platten durch frisches Kulturmedium (200 µl), dem die
15 Testsubstanzen in verschiedenen Konzentrationen (0 µM, sowie im Bereich
0,01 - 30 µM; die finale Konzentration des Lösungsmittels Dimethylsulfoxid
betrug 0,5%) zugesetzt waren, ersetzt. Die Zellen wurden für 4 Tage in
Anwesenheit der Testsubstanzen inkubiert. Die Zellproliferation wurde durch
Färbung der Zellen mit Kristallviolett bestimmt: Die Zellen wurden durch Zugabe
20 von 20 µl/Messpunkt einer 11%igen Glutaraldehyd-Lösung 15 min bei
Raumtemperatur fixiert. Nach dreimaligem Waschen der fixierten Zellen mit
Wasser wurden die Platten bei Raumtemperatur getrocknet. Die Zellen wurden
durch Zugabe von 100 µl/Messpunkt einer 0,1%igen Kristallviolett-Lösung (pH
durch Zugabe von Essigsäure auf pH3 eingestellt) gefärbt. Nach dreimaligem
25 Waschen der gefärbten Zellen mit Wasser wurden die Platten bei
Raumtemperatur getrocknet. Der Farbstoff wurde durch Zugabe von 100
µl/Messpunkt einer 10%igen Essigsäure-Lösung gelöst. Die Extinktion wurde
photometrisch bei einer Wellenlänge von 595 nm bestimmt. Die prozentuale
Änderung des Zellwachstums wurde durch Normalisierung der Messwerte auf
30 die Extinktionwerte der Nullpunktplatte (=0%) und die Extinktion der
unbehandelten (0 µM) Zellen (=100%) berechnet.

Assay 5

Carboanhydraseassay

Das Prinzip des Assays beruht auf der Hydrolyse von 4-Nitrophenyl Acetat
5 durch Carbonanhydrasen (Pocker & Stone, *Biochemistry*, 1967, 6, 668.), mit
anschließender photometrischer Bestimmung des entstandenen Farbstoffs 4-
Nitrophenolat bei 400 nm mittels eines 96-Kanal Spektralphotometers.

2µl der Testverbindungen, gelöst in DMSO (100x der finalen Konzentration), in
10 einem Konzentrationsbereich von 0,03 - 10 µM (final) wurden als
Vierfachbestimmungen in die Löcher einer 96-Loch Mikrotiter-Platte pipettiert.
Löcher, die Lösungsmittel ohne Testverbindungen enthielten dienten als
Referenzwerte (1. Löcher ohne Carboanhydrase zur Korrektur der nicht-
enzymatischen Hydrolyse des Substrates, und 2. Löcher mit Carboanhydrase
15 zur Bestimmung der Aktivität des nicht-inhibierten Enzyms).
188 µl Assaypuffer (10 mM Tris/HCl pH7.4, 80 mM NaCl) ohne oder mit 3
units/Loch an Carboanhydrase I oder II wurden in die Löcher der Mikrotiterplatte
pipettiert. Die enzymatische Reaktion wurde durch die Zugabe von 10 µl der
Substratlösung (1 mM 4-Nitrophenyl Acetat (Fluka #4602), gelöst in Wasser-
20 freiem Acetonitril, gestartet (finale Substratkonzentration: 50 µM). Die Platte
wurde bei Raumtemperatur 60 min inkubiert. Die Extinktionen wurden
photometrisch bei einer Wellenlänge von 400 nm gemessen. Die
Enzyminhibition wurde nach Normalisation der Messwerte auf die Extinktion der
Reaktionen in den Löchern ohne Enzym (=100% Inhibition) und auf die
25 Extinktion der Reaktionen in den Löchern mit nicht-inhibiertem Enzym (=0%
Inhibition) berechnet.

Die Ergebnisse aus den Beispielen und die Vergleichsdaten sind in den nachfolgenden Tabellen 1 bis 3 angegeben. Zum Nachweis der Überlegenheit der erfindungsgemäßen Verbindungen Beispiele 1, 2, 3, 4, 6 und 7 gegenüber den bekannten Verbindungen wurden die erfindungsgemäßen Verbindungen mit strukturähnlichen bekannten Verbindungen Beispiele 10, 47, 144, 255, 271 und 275 aus WO 02/096888 in Enzymtests verglichen. Das Ergebnis ist in den folgenden Tabellen 1 und 2 aufgeführt. In Tabelle 3 werden die verbesserten Daten der erfindungsgemäßen Verbindungen im Vergleich zu den Verbindungen aus WO 02/096888 und Azetazolamid (Diuretikum) wiedergegeben.

Tabelle 1

Beispiel-Nr.	Proliferation IC ₅₀ [µM]			
	MCF7	H460	DU145	MaTu-ADR
1	0,6	0,3	0,4	0,4
2	<0,1	0,13	0,09	0,07
3	<0,1	0,05	0,07	0,04
4	0,12	<0,1	0,1	<0,1
6	0,05	0,05	0,05	0,02
7	0,12	0,16	0,16	0,05
Bsp. 10 aus WO 02/096888	0,4	0,6	0,7	0,8
Bsp. 47 aus WO 02/096888	0,9	1,8	1,3	0,2
Bsp. 144 aus WO 02/096888	1,0	1,7	3	0,3
Bsp. 255 aus WO 02/096888	0,3	1,5	2,0	1,3
4-[5-Brom-4-((R)-2-hydroxy-1,2-dimethyl-propylamino)-pyrimidin-2-ylamino]-benzolsulfonamid (Bsp. 271 aus WO 02/096888)	0,18	0,2	0,15	<0,1
4-[5-Brom-4-((1R,2R)-2-hydroxy-1-methyl-propylamino)-pyrimidin-2-ylamino]-benzolsulfonamid (Bsp. 275 aus WO 02/096888)	0,05	0,04	0,07	0,02

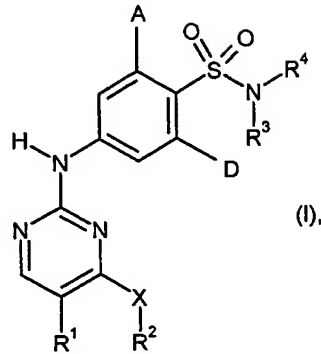
Tabelle 2

Beispiel-Nr.	CDK2/CycE IC ₅₀ [nM]	CDK1/CycB IC ₅₀ [nM]	VEGF-R2 IC ₅₀ [nM]
1	14	15	18
2	2	3	20
3	6	5	19
4	10	5	130
6	8	8	39
7	15	12	56
Bsp. 10 aus WO 02/096888	<10	90	200
Bsp. 47 aus WO 02/098666	13	n.b.	200
Bsp. 77 aus WO 02/098666	800	n.b.	n.b.
Bsp. 144 aus WO 02/098666	13	n.b.	n.b.
Bsp. 255 aus WO 02/096888	50	400	n.b.
4-[5-Brom-4-((R)-2-hydroxy-1,2-dimethyl-propylamino)-pyrimidin-2-ylamino]-benzolsulfonamid (Bsp. 271 aus WO 02/096888)	<10	<10	250
4-[5-Brom-4-((1R,2R)-2-hydroxy-1-methyl-propylamino)-pyrimidin-2-ylamino]-benzolsulfonamid (Bsp. 275 aus WO 02/096888)	<10	<10	130

Tabelle 3

Beispiel-Nr.	Inhibition der humanen Carboanhydrase-2 IC ₅₀ [nM]
1	>10000
2	>10000
3	>10000
6	>10000
7	6000
Bsp. 10 aus WO 02/096888	180
Bsp. 47 aus WO 02/096888	310
Bsp. 77 aus WO 02/096888	160
Bsp. 144 aus WO 02/096888	750
Bsp. 255 aus WO 02/096888	2600
4-[5-Brom-4-((R)-2-hydroxy-1,2-dimethyl-propylamino)-pyrimidin-2-ylamino]-benzolsulfonamid (Bsp. 271 aus WO 02/096888)	530
4-[5-Brom-4-((1R,2R)-2-hydroxy-1-methyl-propylamino)-pyrimidin-2-ylamino]-benzolsulfonamid (Bsp. 275 aus WO 02/096888)	810
Azetazolamid	51

Aus den vorbeschriebenen Tabellen kann der Fachmann erkennen, dass bei
 5 gleichzeitiger gleicher oder verbesserter Inhibition von Zellzykluskinasen im
 Vergleich zu den bekannten strukturähnlichen Verbindungen (Tabelle 1), die
 erfindungsgemäßen Verbindungen gleichzeitig eine stark verringerte bis nicht
 mehr nachweisbare Carboanhydrase Inhibition (Tabelle 3) sowie eine
 verbesserte VEGF-Rezeptortyrosinkinase Inhibition (Tabelle 2) aufweisen.

Patentansprüche:**1. Verbindungen der allgemeinen Formel I**

5

in der

A und D

jeweils unabhängig voneinander für Halogen, Hydroxy, Cyano, für die Gruppe $-O-R^5$, für ein C_3 - C_6 -Cycloalkyl oder für ein gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Halogen oder Hydroxy oder mit der Gruppe $-O-R^5$ substituiertes C_1 - C_4 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, stehen,

10

X

für $-NH-$, $-N(C_1-C_3\text{-Alkyl})-$ oder $-O-$, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht,

15

 R^1

für Halogen oder Cyano steht,

 R^2

für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit C_1 - C_3 -Alkoxy substituiertes Hydroxy- C_1 - C_8 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für ein gegebenenfalls mit Hydroxy oder C_1 - C_3 -Alkyl substituiertes C_3 - C_7 -Cycloalkyl, steht,

20

 R^3 und R^4

jeweils unabhängig voneinander für Wasserstoff oder für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Hydroxy oder der Gruppe $-O-R^5$ oder $-NR^6 R^7$ substituiertes C_1 - C_3 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, stehen,

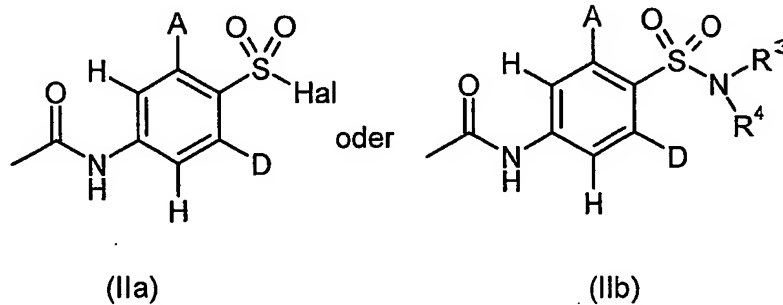
25

- R^5 für gegebenenfalls mit Halogen substituiertes C_1 - C_4 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht und
- R^6 und R^7 jeweils unabhängig voneinander für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Hydroxy oder der Gruppe $-O-R^5$ substituiertes C_1 - C_3 -Alkyl steht, sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.
2. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß Anspruch 1, in der
- X für $-NH-$ oder $-O-$ steht,
- R^2 für gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit C_1 - C_3 -Alkoxy substituiertes Hydroxy- C_1 - C_8 -Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für C_3 - C_7 -Cycloalkyl, steht
- R^3 und R^4 für Wasserstoff stehen und
- R^5 für C_1 - C_4 -Alkyl steht, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, und
- A, D und R^1 die in Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen besitzen, sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.
3. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß Anspruch 1 oder 2, in der
- A und D jeweils unabhängig voneinander für Halogen, Hydroxy, Cyano, für die Gruppe $-O-R^5$, für ein C_3 - C_6 -Cycloalkyl oder für ein gegebenenfalls ein- oder mehrfach, gleich oder verschieden mit Halogen oder Hydroxy substituiertes C_1 - C_4 -Alkyl stehen, und
- X , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 und R^5 die in Anspruch 2 angegebenen Bedeutungen besitzen, sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.

4. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, in der
- A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄-Alkyl oder Halogen stehen,
- 5 X für -NH- oder -O- steht,
- R¹ für Halogen oder Cyano steht,
- R² für ein Hydroxy-C₁-C₈-Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für ein C₃-C₇-Cycloalkyl, steht
- 10 R³ und R⁴ für Wasserstoff stehen und
- R⁵ für C₁-C₄-Alkyl steht,
- sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.
5. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, in der
- 15 A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄-Alkyl oder Halogen stehen,
- X für -NH- oder -O- steht,
- R¹ für Halogen oder Cyano steht,
- 20 R² für ein Hydroxy-C₂-C₆-Alkyl, wobei der Alkylrest gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für ein C₅- oder-C₆-Cycloalkyl, steht
- R³ oder R⁴ für Wasserstoff stehen,
- sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.
- 25 6. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, in der
- A und D jeweils unabhängig voneinander für C₁-C₄-Alkyl oder Halogen stehen,
- 30 X für -NH- oder -O- steht,
- R¹ für Halogen oder Cyano steht,

- R^2 für ein Hydroxy- C_3 - C_5 -Alkyl, wobei der Alkylrest
gegebenenfalls verzweigt sein kann, oder für Cyclohexyl,
steht
- R^3 oder R^4 für Wasserstoff stehen,
5 sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.
7. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß einem der Ansprüche 1
bis 6, in der
- A und D jeweils unabhängig voneinander für C_1 - C_4 -Alkyl stehen,
10 X für -NH- oder -O- steht,
 R^1 für Halogen steht,
 R^2 für ein Hydroxy- C_3 - C_5 -Alkyl, wobei der Alkylrest
gegebenenfalls verzweigt sein kann, steht
 R^3 oder R^4 für Wasserstoff stehen,
15 sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.
8. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß einem der Ansprüche 1
bis 7, bei denen die Bindung zwischen X und R^2 über ein nicht
endständiges C-Atom von R^2 erfolgt, wenn R^2 ein Alkylrest ist.
- 20 9. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß einem der Ansprüche 1
bis 6, in der
- A und D jeweils unabhängig voneinander für C_1 - C_4 Alkyl stehen
X für -NH- steht,
25 R^1 für Cyano steht,
 R^2 für ein C_3 - C_7 -Cycloalkyl steht,
 R^3 oder R^4 für Wasserstoff stehen,
sowie deren Isomeren, Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze.

10. Verwendung der Verbindung der allgemeinen Formel IIa oder IIb



in der A und D, sowie R³ und R⁴ die in der allgemeinen Formel (I) angegebenen Bedeutungen haben, sowie deren Isomeren,

- 5 Diastereomeren, Enantiomeren und/oder Salze als Zwischenprodukte zur Herstellung der Verbindung der allgemeinen Formel I.

11. Verwendung der Verbindung der allgemeinen Formel IIa, gemäß Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass

- 10 A oder D für Halogen, Cyano, Hydroxy, Methoxy, Methyl, CF₃, Ethyl, Isopropyl, Isobutyl oder Cyclopropyl stehen, sowie deren Isomere, Diastereomere, Enantiomere und/oder Salze.

12. Verwendung der Verbindung der allgemeinen Formel IIb, gemäß Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass

- 15 A oder D für Halogen, Cyano, Hydroxy, Methoxy, Methyl, CF₃, Ethyl, Isopropyl, Isobutyl oder Cyclopropyl stehen und R³ oder R⁴ für Wasserstoff stehen, sowie deren Isomere, Diastereomere, Enantiomere und/oder Salze.

13. Verwendung der Verbindung der allgemeinen Formel IIa, gemäß

Anspruch 10 oder 11 oder der allgemeinen Formel (IIb), gemäß Anspruch 10 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass

- 20 A oder D für Methyl stehen und
25 R³ oder R⁴ für Wasserstoff stehen, sowie deren Isomere, Diastereomere, Enantiomere und/oder Salze.

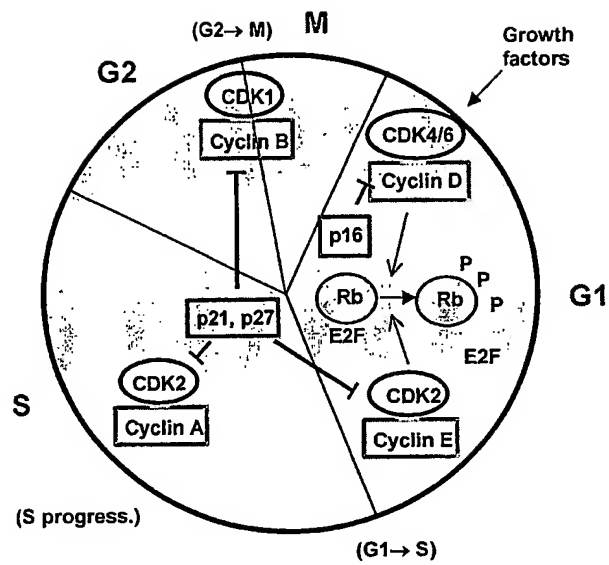
14. Pharmazeutische Mittel umfassend eine Verbindung der allgemeinen Formel I gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9.
15. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß den Ansprüchen 1 bis 9, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krebs, Angiofibroma, Arthritis, Augenerkrankungen, Autoimmunerkrankungen, Chemotherapeutika-induzierter Alopecie und Mukositis, Crohn-Krankheit, Endometriose, fibrotische Erkrankungen, Hämangioma, kardiovaskulären Erkrankungen, infektiösen Erkrankungen, nephrologischen Erkrankungen, chronischen und akuten neurodegenerativen Erkrankungen, sowie von Verletzungen des Nervengewebes, viralen Infektionen, zur Hemmung der Reocclusion von Gefäßen nach Ballonkatheterbehandlung, bei der Gefäßprothetik oder nach dem Einsetzen von mechanischen Vorrichtungen zum Offenhalten von Gefäßen, wie z. B. Stents, als Immunsuppressiva, zur Unterstützung der narbenfreien Wundheilung, bei Altersflecken und bei Kontaktdermatitis.
16. Verwendung gemäß Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass unter Krebs solide Tumoren, Tumor- oder Metastasenwachstum, Kaposi Sarkom, Morbus Hodgkin und Leukämie, unter Arthritis, rheumatoide Arthritis, unter Augenerkrankungen, diabetische Retinopathie, Neovaskulares Glaukom, unter Autoimmunerkrankungen Psoriasis, Alopecie und Multiple Sklerose, unter fibrotische Erkrankungen, Leberzirrhose, mesangialzellproliferative Erkrankungen, Arteriosklerose, unter infektiösen Erkrankungen durch unizelluläre Parasiten hervorgerufene Erkrankungen, unter kardiovaskulären Erkrankungen Stenosen, wie z. B. Stent-induzierte Restenose, Arteriosklerosen und Restenosen, unter nephrologischen Erkrankungen Glomerulonephritis, diabetische Nephropatie, maligne Nephrosklerose, thrombotische mikroangiopathische Syndrome, Transplantationsabstoßungen und Glomerulopathie,

- unter chronisch neurodegenerativen Erkrankungen Huntington's
Erkrankung, amyotrophe Lateralsklerose, Parkinsonsche Erkrankung,
AIDS Dementia und Alzheimer'sche Erkrankung,
unter akut neurodegenerativen Erkrankungen Ischämien des Gehirns und
5 Neurotraumata,
und unter viralen Infektionen Cytomegalus-Infektionen, Herpes, Hepatitis
B oder C, und HIV Erkrankungen zu verstehen sind.
17. Arzneimittel, die mindestens eine Verbindung gemäß mindestens einem
10 der Ansprüche 1 bis 9 enthalten.
18. Arzneimittel gemäß Anspruch 16, die zusätzlich geeignete
Formulierungs- und/oder Trägerstoffen enthalten.
- 15 19. Arzneimittel gemäß Anspruch 16 oder 17, zur Behandlung von Krebs,
Angiofibroma, Arthritis, Augenerkrankungen, Autoimmunerkrankungen,
Chemotherapeutika-induzierter Alopezie und Mukositis, Crohn-Krankheit,
Endometriose, fibrotische Erkrankungen, Hämangioma, kardiovaskulären
Erkrankungen, infektiösen Erkrankungen, nephrologischen
20 Erkrankungen, chronischen und akuten neurodegenerativen
Erkrankungen, sowie von Verletzungen des Nervengewebes, und viralen
Infektionen und zur Hemmung der Reocclusion von Gefäßen nach
Ballonkatheterbehandlung, bei der Gefäßprothetik oder nach dem
Einsetzen von mechanischen Vorrichtungen zum Offenhalten von
25 Gefäßen, wie z. B. Stents, und als Immunsuppressiva, und zur
Unterstützung der narbenfreien Wundheilung, und bei Altersflecken und
bei Kontaktdermatitis.
20. Arzneimittel zur Verwendung gemäß Anspruch 18, wobei unter Krebs
30 solide Tumoren, Tumor- oder Metastasenwachstum, Kaposi Sarkom,
Morbus Hodgkin und Leukämie,
unter Arthritis, rheumatoide Arthritis, unter Augenerkrankungen,
diabetische Retinopathie, Neovaskuläres Glaukom,

- unter Autoimmunerkrankungen Psoriasis, Alopezie und Multiple Sklerose,
unter fibrotische Erkrankungen, Leberzirrhose, mesangialzellproliferative
Erkrankungen, Arteriosklerose,
unter infektiösen Erkrankungen durch unizelluläre Parasiten
5 hervorgerufene Erkrankungen,
unter kardiovaskulären Erkrankungen Stenosen, wie z. B. Stent-
induzierte Restenose, Arteriosklerosen und Restenosen,
unter nephrologischen Erkrankungen Glomerulonephritis, diabetische
Nephropatie, maligne Nephrosklerose, thrombische mikroangiopatische
10 Syndrome, Transplantationsabstoßungen und Glomerulopathie,
unter chronisch neurodegenerativen Erkrankungen Huntington's
Erkrankung, amyotrophe Lateralsklerose, Parkinsonsche Erkrankung,
AIDS Dementia und Alzheimer'sche Erkrankung,
unter akut neurodegenerativen Erkrankungen Ischämien des Gehirns und
15 Neurotraumata,
und unter viralen Infektionen Cytomegalus-Infektionen, Herpes, Hepatitis
B oder C, und HIV Erkrankungen zu verstehen sind.
21. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I gemäß
20 mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9 und/oder der pharmazeutischen
Mittel gemäß Anspruch 13 als Inhibitoren von Zyklin-abhängigen
Kinasen.
22. Verwendung gemäß Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass die
25 Kinase CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 oder
CDK9 ist.
23. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I gemäß
mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9 und/oder der pharmazeutischen
30 Mittel gemäß Anspruch 13 als Inhibitoren der Glycogen-Synthase-Kinase
(GSK-3 β).

24. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9 und/oder der pharmazeutischen Mittel gemäß Ansprüche 13 als Inhibitoren der VEGF-Rezeptortyrosinkinasen.
- 5
25. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9 und/oder der pharmazeutischen Mittel gemäß Anspruch 13 als Inhibitoren der Zyklin-abhängigen Kinasen und der VEGF-Rezeptortyrosinkinasen.
- 10
26. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9, in Form eines pharmazeutischen Präparates für die enterale, parenterale und orale Applikation.
- 15
27. Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9, und Arzneimittel gemäß mindestens einem der Ansprüche 16 bis 19 mit geeigneten Formulierungs- und Trägerstoffen.
- 20
28. Verwendung der Verbindungen der allgemeinen Formel I, gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9 in Form eines pharmazeutischen Präparates für die enterale, parenterale und orale Applikation.
- 25
29. Verwendung des pharmazeutischen Mittels gemäß Anspruch 13 in Form eines Präparates für die enterale, parenterale und orale Applikation.

Fig 1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

EP/EP2005/010578

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07D239/48 C07D239/46 A61K31/505 A61P35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, BIOSIS, BEILSTEIN Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 02/096888 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT) 5 December 2002 (2002-12-05) cited in the application claims examples 10,270,271	1-29
Y	WO 02/04429 A (ASTRAZENECA AB; ASTRAZENECA UK LIMITED; THOMAS, ANDREW, PETER; NEWCOMB) 17 January 2002 (2002-01-17) cited in the application claims	1-29
A	WO 03/076437 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT) 18 September 2003 (2003-09-18) claims	1-29
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>*L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>*Z* document member of the same patent family</p> </div> </div>		
Date of the actual completion of the international search 14 December 2005		Date of mailing of the international search report 30/12/2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax. (+31-70) 340-3016		Authorized officer Kollmannsberger, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

.../EP2005/010578

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CASINI ANGELA ET AL: "Carbonic anhydrase inhibitors: X-ray crystallographic structure of the adduct of human isozyme II with a bis-sulfonamide: Two heads are better than one?" BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 13, no. 16, 18 August 2003 (2003-08-18), pages 2759-2763, XP002359155 ISSN: 0960-894X cited in the application the whole document</p>	1-29
A	<p>SAAB N H ET AL: "Phenylsulfonylnitromethanes as potent irreversible inhibitors of aldose reductase" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS, FR, vol. 34, no. 9, September 1999 (1999-09), pages 745-751, XP004202950 ISSN: 0223-5234 compound 25</p>	10
A	<p>CROSS P E ET AL: "Cerebrovasodilatation through selective inhibition of the enzyme carbonic anhydrase. 1. Substituted benzenedisulfonamides." JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY. SEP 1978, vol. 21, no. 9, September 1978 (1978-09), pages 845-850, XP002359156 ISSN: 0022-2623 page 848; compound 44</p>	10
A	<p>DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; "Sulfonyl chlorides" XP002359158 retrieved from STN Database accession no. 1984:102940 abstract; compounds 88963-78-4 & JP 58 183665 A2 (SUMITOMO CHEMICAL CO., LTD., JAPAN) 26 October 1983 (1983-10-26)</p>	10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

.. /EP2005/010578

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 21-26, 28, 29 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP2005/010578

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

!...EP2005/010578

[illegible]

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES C07D239/48 C07D239/46 A61K31/505 A61P35/00		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) C07D A61K A61P		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, BIOSIS, BEILSTEIN Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 02/096888 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT) 5. Dezember 2002 (2002-12-05) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche Beispiele 10,270,271	1-29
Y	WO 02/04429 A (ASTRAZENECA AB; ASTRAZENECA UK LIMITED; THOMAS, ANDREW, PETER; NEWCOMB) 17. Januar 2002 (2002-01-17) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche	1-29
A	WO 03/076437 A (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT) 18. September 2003 (2003-09-18) Ansprüche	1-29
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
14. Dezember 2005		30/12/2005
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Kollmannsberger, M

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>CASINI ANGELA ET AL: "Carbonic anhydrase inhibitors: X-ray crystallographic structure of the adduct of human isozyme II with a bis-sulfonamide: Two heads are better than one?"</p> <p>BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, Bd. 13, Nr. 16, 18. August 2003 (2003-08-18), Seiten 2759-2763, XP002359155 ISSN: 0960-894X in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument</p> <p>-----</p>	1-29
A	<p>SAAB N H ET AL: "Phenylsulfonylnitromethanes as potent irreversible inhibitors of aldose reductase"</p> <p>EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS, FR, Bd. 34, Nr. 9, September 1999 (1999-09), Seiten 745-751, XP004202950 ISSN: 0223-5234 Verbindung 25</p> <p>-----</p>	10
A	<p>CROSS P E ET AL: "Cerebrovasodilatation through selective inhibition of the enzyme carbonic anhydrase. 1. Substituted benzenedisulfonamides."</p> <p>JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY. SEP 1978, Bd. 21, Nr. 9, September 1978 (1978-09), Seiten 845-850, XP002359156 ISSN: 0022-2623 Seite 848; Verbindung 44</p> <p>-----</p>	10
A	<p>DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; "Sulfonyl chlorides" XP002359158 gefunden im STN Database accession no. 1984:102940 Zusammenfassung; Verbindungen 88963-78-4 & JP 58 183665 A2 (SUMITOMO CHEMICAL CO., LTD., JAPAN) 26. Oktober 1983 (1983-10-26)</p> <p>-----</p>	10

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

Obwohl die Ansprüche 21-26,28,29 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der Internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 02096888 A	05-12-2002	BR 0209774 A	01-06-2004
		CA 2449118 A1	05-12-2002
		CN 1633419 A	29-06-2005
		EP 1392662 A1	03-03-2004
		JP 2004535414 T	25-11-2004
		MX PA03010810 A	22-03-2004
		NZ 529654 A	19-12-2003
		PL 367130 A1	21-02-2005
		US 2004102630 A1	27-05-2004
WO 0204429 A	17-01-2002	AU 6931701 A	21-01-2002
		BG 107451 A	30-09-2003
		BR 0112420 A	24-06-2003
		CA 2415486 A1	17-01-2002
		CN 1454210 A	05-11-2003
		CZ 20030076 A3	16-04-2003
		EE 200300020 A	15-10-2004
		EP 1303496 A1	23-04-2003
		HU 0301722 A2	29-12-2003
		JP 2004502763 T	29-01-2004
		NO 20030146 A	10-01-2003
		NZ 523357 A	30-07-2004
		PL 360385 A1	06-09-2004
		SK 282003 A3	01-07-2003
		TW 221470 B	01-10-2004
		US 2003216406 A1	20-11-2003
		ZA 200300079 A	05-05-2004
WO 03076437 A	18-09-2003	AU 2003212282 A1	22-09-2003
		EP 1483260 A1	08-12-2004
		JP 2005526765 T	08-09-2005
JP 58183665 A2	--	--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--
		--	--

Internationales Aktenzeichen
'EP2005/010578

[illegible]

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.